

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Gynäkologie
der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Direktor: Prof. Dr. med. C. Thomssen

Prävalenz humaner Papillomviren und anderer sexuell übertragbarer Erreger bei Schwangeren in Äthiopien

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Isabel Helen Runge
geboren am 07.10.1987 in Freiburg im Breisgau

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. C. Thomssen
2. PD Dr. rer. nat. S. Unverzagt
3. PD Dr. rer. nat. A. Kaufmann, Charité, Berlin

08.11.2016

17.11.2017

Meinen Eltern
Christa und Michael Runge

Referat

Hintergrund: Das Zervixkarzinom ist weltweit das vierthäufigste Karzinom bei Frauen. In Entwicklungsländern, wie dem Studienland Äthiopien, belegt es nach dem Mammakarzinom den zweiten Platz, da es an präventiven Maßnahmen und Vorsorgeuntersuchungen mangelt. Das humane Papillomvirus (HPV) stellt einen notwendigen, wenn auch nicht hinreichenden Faktor für die Entstehung des Zervixkarzinoms dar. Aufgrund der unzureichenden Datenlage in Äthiopien, sollte mit einer Querschnittsstudie die Prävalenz von HPV-Infektionen und ihrer Risikofaktoren erhoben werden. **Methoden:** Es wurden 784 schwangere Frauen zwischen 18 und 45 Jahren auf vaginale HPV-Infektionen, HPV-Antikörper im Serum und auf sexuell übertragbare Erkrankungen untersucht und nach soziodemographischen Faktoren befragt. Die Analyse von 51 mukosalen HPV-Typen mittels Multiplex Papillomvirus Genotypisierung und das Multiplex STI Profiling wurden an vaginalem Lavagematerial am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) durchgeführt. Hier wurden auch die HPV-Antikörper mittels Multiplex Serologie aus Trockenblut bestimmt. **Ergebnisse:** Das Durchschnittsalter der untersuchten Frauen lag bei 25,9 Jahren. Von diesen Frauen waren 33,2% HPV-DNA positiv, 22,1% wiesen mindestens einen Hochrisiko- und 18,5% mindestens einen Niedrigrisiko-HPV-Typ auf. 15,7% der Frauen hatten mehr als einen HPV-Typ. Als häufigste Hochrisiko-Typen fanden sich HPV 16, 52, 51 und 39. Es zeigten sich deutliche Unterschiede der HPV-Prävalenzen zwischen Stadt und Land: 36,8% (95%-Konfidenzintervall (KI): 33,1-40,6) vs. 17,6% (95%-KI: 11,6-23,7). Weitere Risikofaktoren wurden in der multivariaten Analyse ermittelt. Vaginalen HPV-Infektionen korrelierten signifikant mit Herkunft (Stadt oder Land) und einem jungen Alter bei erstem Geschlechtsverkehr. Keine Korrelation bestand bei Alter, Gebrauch von Kontrazeptiva, Bildungsniveau, Beschneidung und Parität. Für Polygamie zeigte sich eine geringe Korrelation. 20,8 % der Frauen waren serologisch für untersuchte HPV-Typen positiv. Die Prävalenzen der klassischen Geschlechtskrankheiten waren niedrig-normal (Chlamydien: 0,6%, Gonokokken: 0,6%, Trichomonaden: 2,3%, HSV 2: 1,5%). Es zeigte sich eine Korrelation von HPV mit Chlamydien (alle Chlamydienfälle waren HPV positiv) und Herpes simplex Typ 2 Viren (Odds Ratio: 10,53 (2,29-48,41)). Auch Gardnerella vaginalis und Atopobium vaginae fanden sich häufiger bei HPV positiven Frauen. **Schlussfolgerung:** Die HPV-Prävalenz in Äthiopien ist wie in anderen ostafrikanischen Ländern sehr hoch. Die Implementierung von HPV-Impfung und -Screening stellt in einem Land mit niedrigem Einkommen, ohne sicherer Kühlkette und einem Mangel an ausgebildetem Personal eine Herausforderung dar. Diese sollte angenommen werden, um in Zukunft viele Frauen in Äthiopien vor einem Zervixkarzinom zu schützen.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Die Rolle der humanen Papillomviren | 1 |
| 1.2 | Zervixkarzinome und HPV in entwickelten Ländern | 3 |
| 1.3 | Zervixkarzinome und HPV in Entwicklungsländern | 4 |
| 1.4 | Äthiopien als Entwicklungsland | 5 |
| 1.5 | Zervixkarzinome und HPV in Äthiopien | 6 |
| 2 | Zielstellung | 9 |
| 2.1 | Hintergrund und Zielstellung der Studie..... | 9 |
| 2.2 | Fragestellungen..... | 9 |
| 3 | Material und Methodik | 11 |
| 3.1 | Material | 11 |
| 3.1.1 | Aufklärung und Fragebogen..... | 11 |
| 3.1.2 | Vaginale Probe | 11 |
| 3.1.3 | Blutprobe..... | 13 |
| 3.1.4 | Software zur Auswertung und Darstellung | 13 |
| 3.2 | Methodik | 14 |
| 3.2.1 | Kollektiv | 14 |
| 3.2.2 | Wahl der Einrichtungen | 14 |
| 3.2.3 | Aufklärung und Einverständniserklärung | 15 |
| 3.2.4 | Fragebogen..... | 15 |
| 3.2.5 | Vaginale Probe | 17 |
| 3.2.6 | Untersuchung der vaginalen Probe auf HPV mittels MPG..... | 19 |
| 3.2.7 | Untersuchung der vaginalen Proben auf STIs mittels STIP..... | 23 |
| 3.2.8 | Ausschluss von 240 Proben bei sehr niedrigen MFI-Werten der Positivkontrollen | 24 |
| 3.2.9 | Serologie mittels Dried Blood Spot Cards | 24 |
| 3.2.10 | Statistik..... | 26 |
| 3.2.11 | Einsatzbereich der Doktorandin | 27 |
| 4 | Ergebnisse | 28 |
| 4.1 | Beteiligung | 28 |
| 4.2 | Probenzahl | 28 |
| 4.3 | Epidemiologisches Profil des Studienkollektivs | 29 |
| 4.4 | Nachweis von β-Globin in Proben unterschiedlichen Volumens | 31 |
| 4.5 | Humane Papillomviren DNA in vaginalen Proben | 31 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.5.1 | Verteilung der HPV-Typen | 32 |
| 4.5.2 | Einfache und Mischinfektionen, Hochrisiko-HPV und hohe Viruslast | 34 |
| 4.5.3 | HPV-Prävalenz nach Stadt und Land | 35 |
| 4.5.4 | Risikofaktoren in der multivariaten Analyse | 36 |
| 4.5.5 | Detektion von elf HPV-Universalsonden | 38 |
| 4.6 | Sexually Transmitted Infections (STI) und die vaginale Flora | 39 |
| 4.6.1 | Prävalenz untersuchter Erreger | 39 |
| 4.6.2 | STIs bei HPV positiven Frauen | 40 |
| 4.7 | HPV-Antikörper in der Serologie | 42 |
| 4.8 | HPV-DNA und HPV-Antikörper im Vergleich | 43 |
| 5 | Diskussion | 45 |
| 5.1 | Studienkollektiv | 45 |
| 5.2 | Humane Papillomvirus DNA in vaginalen Proben | 46 |
| 5.2.1 | HPV-Prävalenz | 46 |
| 5.2.2 | HPV-Typen und ihre Viruslast | 47 |
| 5.2.3 | HPV-Prävalenz nach Stadt und Land | 48 |
| 5.3 | Risikofaktoren in der multivariaten Analyse | 50 |
| 5.4 | HPV-Antikörper in der Serologie | 52 |
| 5.4.1 | Prävalenz der HPV-Antikörper | 52 |
| 5.4.2 | HPV-Antikörper nach Stadt und Land | 53 |
| 5.5 | Sexually Transmitted Infections (STI) und die vaginale Flora | 54 |
| 5.6 | HPV-Screening und -Impfung | 57 |
| 6 | Zusammenfassung | 59 |
| 7 | Literaturverzeichnis | 61 |
| 8 | Thesen | 72 |
| 9 | Anhang | 73 |
| | Lebenslauf | |
| | Selbstständigkeitserklärung | |
| | Danksagungen | |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------|--|
| 95%-KI | 95%-Konfidenzintervall |
| AK | Antikörper |
| BSG-Primer | Broad Spectrum General Primer |
| BV | Bakterielle Vaginose |
| DKFZ | Deutsches Krebsforschungszentrum |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| HIV | Humanes Immundefizienz-Virus |
| HPV | Humane Papillomviren |
| hrHPV | High-risk (Hochrisiko-) humane Papillomviren |
| HSIL/LSIL | Low/High Grade Squamous Intraepithelial Lesions |
| HSV | Herpes simplex Viren |
| hvl | High viral load (hohe Viruslast) |
| IARC | International Agency for Research on Cancer |
| L1/E6 | Late-protein 1 / Early-protein 6 |
| lrHPV | Low-risk (Niedrigrisiko-) humane Papillomviren |
| MFI | Median Fluorescence Intensity |
| MPG | Multiplex Papillomvirus Genotypisierung |
| NGO | Non-governmental Organisation |
| OR | Odds Ratio |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| phrHPV | Probable high-risk (mögliche Hochrisiko-) humane Papillomviren |
| PoA | Gen für Polymerase 1 |
| qPCR | Quantitative PCR |
| RKI | Robert Koch Institut |
| SPSS | Statistical Package for Social Sciences |
| STI | Sexually Transmitted Infections |
| STIP | Sexually Transmitted Infections Profiling |
| WHO | World Health Organisation |

1 Einleitung

Das Zervixkarzinom ist mit weltweit 528 000 Neuerkrankungen jährlich das vierthäufigste Karzinom bei Frauen. Etwa die Hälfte der Betroffenen verstirbt daran, wobei die Mehrzahl der Todesfälle (87%) in Entwicklungsländern vorkommt [1]. Während in der westlichen Welt durch Vorsorgeuntersuchungen und frühzeitige Therapie schon präinvasive Läsionen erkannt und behandelt werden können, gibt es in vielen Ländern weder Vorsorge noch Therapie. Diese Umstände führen dazu, dass 85% der Zervixkarzinomfälle in Entwicklungsländern vorkommen und hier ein großes gesundheitliches Problem darstellen [1]. Der ursächliche Zusammenhang zwischen humanen Papillomviren und der Entstehung von Zervixkarzinomen ist nach vielen Jahren der Forschung hinreichend geklärt [2-6]. Humane Papillomviren können bei über 99% der invasiven Zervixkarzinome, aber auch zu einem geringeren Anteil bei anderen anogenitalen bzw. oralen Krebsentitäten, nachgewiesen werden [7, 8]. Somit sind humane Papillomviren für insgesamt 4,8% der weltweiten Karzinomfälle verantwortlich [9].

1.1 Die Rolle der humanen Papillomviren

Das humane Papillomvirus (HPV) beeinträchtigt Menschen weltweit, sei es durch harmlose, aber störende Genitalwarzen oder durch Zervix-, Vulva-, Kopf-/Hals-, Penis- oder Analkarzinome [9, 10]. Männer und Frauen sind gleichermaßen von HPV betroffen, wenngleich die hohen Zervixkarzinom-Raten in vielen Ländern nur Frauen beeinträchtigen.

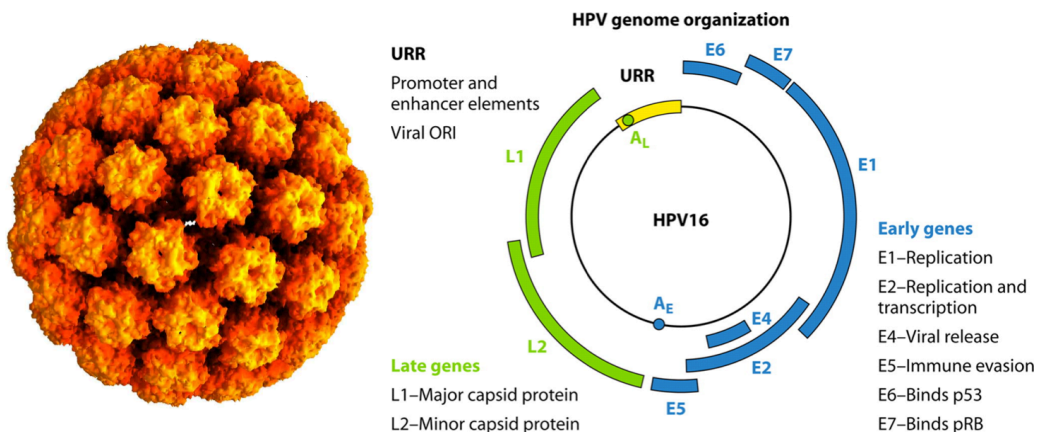


Abbildung 1: Das humane Papillomvirus und sein Genom [11, 12]

HPV ist ein DNA-Virus, welches Epithelzellen von Haut und Schleimhaut befällt. Sein Capsidumhülltes, zirkuläres Genom codiert für sogenannte early proteins (E1, E2, E4, E6 und E7), verantwortlich für die virale Transkription und Replikation, und late proteins (L1 und L2),

Strukturproteine der Virushülle [13, 14]. Der Nachweis von E6 und E7 bei Hochrisiko-HPV-Typen weist auf Infektionen mit hohem kanzerogenen Potential hin. E6-Proteine sind für den Abbau des zellulären Tumorsuppressorproteins p53 verantwortlich und verhindern somit die natürliche Apoptose der Zellen. E7 bindet das zelluläre Retinoblastomprotein und führt dadurch zur Beschleunigung des Zellzyklus. Diese Faktoren sind Teil der malignen Transformation der Zellen, was zur Tumorentstehung führt [15, 16]. Von den über 120 bisher bekannten HPV-Typen sind 51 mukosal, während die anderen zu den kutanen HPV-Typen gezählt werden [8]. Die mukosalen HPV-Typen werden nach ihrem onkogenen Verhalten in Hoch- (high-) und Niedrigrisiko (low-risk) unterschieden und im Folgenden mit hrHPV bzw. lrHPV abgekürzt [8, 17]. Zu den häufig vorkommenden hrHPV-Typen bei Zervixkarzinomen (95%) zählen HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 und 58 [17]. Auch die Vorstufen des Zervixkarzinoms CIN I – III werden durch die Persistenz der hrHPV hervorgerufen [18]. Allein HPV 16 und 18 sind für ungefähr 70% der Karzinomfälle weltweit verantwortlich [10]. Studien ergaben, dass Vorstufen wie LSIL und HSIL (Low/High Grade Squamous Intraepithelial Lesions) nicht nur höhere Prävalenzen von HPV-Typen als unauffällige zervikale Befunde aufwiesen, sondern zudem auch höhere Viruslasten zeigten. Je ausgeprägter der Dysplasiegrad, desto höher die Prävalenz und die Viruslast, wobei die Progression von LSIL zu HSIL an die Persistenz von hrHPV gebunden ist [19-21].

LrHPV-Typen, wie HPV 6 und 11, können Genitalwarzen (Condylomata acuminata) verursachen. Sie werden als höchst unangenehm empfunden und sind kontagiös [22]. Eine genauere Einteilung in Hoch-, mögliche (probable) Hoch- und Niedrigrisiko-Typen wird in Kapitel 3.2.6 erläutert und für die gesamte Arbeit beibehalten.

Mukosale HPV-Infektionen sind häufig und ihre Übertragung erfolgt hauptsächlich über Geschlechtsverkehr. Die meisten Infektionen werden in den ersten Jahren nach Aufnahme sexueller Aktivität erworben, und ein Großteil der Menschen wird im Laufe ihres Lebens infiziert. In der Regel ist die Infektion jedoch vorübergehend und nach einigen Monaten bis Jahren nicht mehr nachweisbar [23-25]. Nur in wenigen Fällen kommt es zur Viruspersistenz mit konsekutiver Entstehung von Neoplasien [3, 26]. Als Risiko für eine Infektion mit HPV, deren Persistenz und einer Progression zum Zervixkarzinom gelten vor allem multiple Partner, früheinsetzender und ungeschützter (Kondome) Geschlechtsverkehr, langjährige Einnahme von oralen Kontrazeptiva, Rauchen, Infektionen mit HIV und STIs (Sexually Transmitted Infections), wie z.B. Chlamydien und Herpes Simplex Typ 2 Viren (HSV 2) [27-33].

Die Immunreaktion auf HPV-Infektionen ist schwach und bleibt nicht lebenslang erhalten. Dies liegt zum einen an der nicht-inflammatorischen, nicht-lysierenden lokalen Infektion und zum anderen daran, dass die HPV-Infektion keine blutgebundene Phase aufweist. So werden weder

die humorale noch die zelluläre Immunantwort aktiviert und man kann erst bei persistierenden Infektionen in 50-70% der Fälle eine Serokonversion mit Antikörpern gegen L1 feststellen [34, 35].

Nach einer transienten HPV-Infektion besteht ein gewisser Schutz gegen eine erneute Infektion mit dem gleichen HPV-Typ, jedoch sind nach einer Impfung die Antikörpertiter um ein vielfaches höher als bei natürlich erworbener Immunität [35]. Eine Kreuzimmunität mit anderen HPV-Typen konnte nach durchgemachter Infektion nicht bestätigt werden [36].

Seit 2008 sind der bivalente Cervarix®-Impfstoff (HPV 16 und 18) und der quadrivalente Gardasil®-Impfstoff (HPV 16, 18, 6 und 11) in vielen Ländern erhältlich. Es handelt sich um einen „präventiven“ Impfstoff, mit dem bei HPV naiven Frauen eine Risikosenkung für Zervixkarzinome von bis zu 70% erreicht werden kann [37, 38]. Der neuentwickelte nonavalente Impfstoff Gardasil 9® immunisiert mit ähnlich gutem Ergebnis zudem gegen HPV 31, 33, 45, 52 und 58. Hiermit sollen bis zu 90% der Zervixkarzinome verhindert werden [39-41].

1.2 Zervixkarzinome und HPV in entwickelten Ländern

In Deutschland erkranken laut einer Hochrechnung des RKI im Jahr 2016 etwa 4300 Frauen an einem invasiven Zervixkarzinom, woran mehr als ein Drittel verstirbt [42]. Durch die Einführung eines flächendeckenden PAP-Screenings konnte in den letzten Jahrzehnten die Zervixkarzinomrate in vielen westlichen Ländern drastisch gesenkt werden [43]. Durch die Diagnostik von präinvasiven Vorstufen wird das Zervixkarzinom zu einer früherkennbaren Entität und gehört damit zu den verhinderbaren Krebserkrankungen.

In Deutschland liegt die HPV-Prävalenz bei Frauen mit unauffälligem zervikalem Befund bei 6,3%, in ganz Westeuropa bei 9% und weltweit bei 11,7% [44, 45]. Eine große deutsche Studie zeigte, ungeachtet des zervikalen Befundes, eine HPV-Gesamtprävalenz von 22,3% bei 10-30 jährigen Frauen. Das Maximum in dieser Studie lag mit 28,3% bei 20-22 jährigen Frauen deutlich über der Gesamtprävalenz [46]. Liegt hingegen ein gesicherter pathologischer Befund vor (Inflammation, CIN I-III, Zervixkarzinom), so steigt die HPV-Prävalenz mit dem Schweregrad der Läsion an [26, 44].

Im März 2007 sprach die Ständige Impfkommission (STIKO) eine Empfehlung für die Impfung gegen HPV aus. Die Empfehlung gilt bundesweit für alle 12- bis 17-jährigen Mädchen, nicht jedoch für männliche Jugendliche. Eine catch-up Impfung kann auf Anraten des Arztes auch zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen [45, 47].

Bis 2012 hatten 39 Länder eine der beiden Impfungen in ihr Impfprogramm aufgenommen. Laut Weltbank gehörten 22 dieser Länder zu den einkommensstarken, 15 zu den mäßig wohlhabenden und zwei (Bhutan und Rwanda) zu den armen Ländern der Welt. Seitdem haben viele weitere Länder die HPV-Impfung eingeführt [48].

1.3 Zervixkarzinome und HPV in Entwicklungsländern

Während infektiöse Erkrankungen in Entwicklungsländern langsam abnehmen, werden chronische Erkrankungen und Karzinome immer häufiger. 87% der zervixkarzinombedingten Todesfälle kommen in Entwicklungsländern vor, wo die Mortalitätsrate im Vergleich zu westlichen Industrienationen bis zu 18-fach erhöht ist. Sie stellen somit ein großes gesundheitliches Problem dar [1]. Für die hohe Morbidität und Mortalität des Zervixkarzinoms ist vor allem der Mangel an Vorsorgeuntersuchungen, die es meist nur in großen Städten oder im privaten Sektor gibt, verantwortlich. Diese Untersuchungen sind für einen Großteil der Bevölkerung aus Kostengründen nicht zugänglich und so werden symptomlose präinvasive und symptomarme frühe Stadien oft nicht erkannt.

Die späte Vorstellung beim Arzt, die fehlende fachliche Kompetenz und die limitierten Behandlungsmöglichkeiten verschlechtern die Prognose des Zervixkarzinoms. Aufgrund langer Anfahrtswege, Armut, geringem Gesundheits- oder Krankheitsbewusstsein, falschem Verständnis der Krankheitsursachen und Scham stellen sich erkrankte Frauen meist spät vor. Die Patientinnen kommen erst, wenn sie durch Blutungen oder Foetor auf ihre Erkrankung aufmerksam gemacht oder von Familienmitgliedern darauf angesprochen werden. Zu diesem Zeitpunkt ist das Karzinom in vielen Fällen bereits fortgeschritten (klinisches Stadium \geq IIB) [49, 50]. Während in entwickelten Ländern ein breites Spektrum an therapeutischen Maßnahmen zur Verfügung steht, gibt es in Entwicklungsländern meistens nur die radikale Operation und in wenigen Zentren eine externe Feldbestrahlung des Beckens, welche häufig mit schweren postoperativen (-radiotherapeutischen) Komplikationen behaftet sind [51, 52].

Die hohe Inzidenz an Zervixkarzinomen im Ostafrika, 42,7 / 100 000 (vgl. Westeuropa: 7,3 / 100 000), ist neben dem fehlenden Screening auch auf eine hohe HPV-Prävalenz zurückzuführen [1]. In Ostafrika wurde bei 33,6% der Frauen ohne auffälligen Zervix-Befund eine HPV-Infektion festgestellt, während es in Westeuropa nur 9% waren [44].

Eine Herausforderung bleibt, wo medizinische Entwicklungshilfe im Bereich des Zervixkarzinoms eingreifen sollte und wie sie am effizientesten zu strukturieren wäre. Die Einführung eines flächendeckenden PAP-Screenings ist aufgrund des Mangels an ausreichend ausgestatteten medizinischen Einrichtungen erschwert. Es fehlen qualifiziertes ärztliches und pflegerisches Personal und technische Ausrüstung wie Kolposkope, Autoklaven, Mikroskope, geeignete Untersuchungsstühle und Instrumente. Ein besonders gravierendes Problem ist die meist fehlende zytologische und histologische Aufarbeitung der Proben, da es nicht genügend qualifizierte Zytologieassistenten und Pathologen gibt.

Ein einfaches VIA-Screening (Visual Inspection with Acetic Acid) oder eine HPV-Testung mit konsekutiver Kryotherapie bei positivem Befund, wären denkbare Möglichkeiten [51, 53, 54]. Diese Screening-Methoden fordern eine ausreichende Infrastruktur und eine regelmäßige Vor-

stellung in einer medizinischen Einrichtung, die bei den Frauen Wissen und Bewusstsein voraussetzt [55]. Eine Alternative wären mobile Screening-Einheiten oder dazu ausgebildete Krankenschwestern, welche die Frauen auf ihren Dörfern aufsuchen. Der Ansatz einer flächendeckenden HPV-Impfung über Gesundheitseinrichtungen und Schulen wird von Organisationen wie PATH und GAVI verfolgt. Die Impfung soll für das Land bezahlbar sein (subventioniert), aber nicht umsonst zur Verfügung stehen. Auch die Organisation von Infrastruktur, Kühlketten und Impfung der jungen Frauen obliegt dem jeweiligen Staat. Die Verantwortung wird vom jeweiligen Land selbst übernommen [48, 53, 56]. So wurde die Impfung bereits in Ländern wie Rwanda, Uganda, Peru, Vietnam und Indien eingeführt. Trotzdem haben viele Länder, wie zum Beispiel auch Äthiopien, bei den bekannten Defiziten im Bereich der Vorsorge und Therapie bislang noch keine Impfung. Im Vordergrund stehen hier die hohen Kosten für ein solches Projekt bei gleichzeitig mangelnder Infrastruktur und fehlender Datenlage.

1.4 Äthiopien als Entwicklungsland

Äthiopien liegt in Ostafrika, am Horn von Afrika, und grenzt an Kenia, Somalia, Sudan, Südsudan, Eritrea und Dschibuti. Im Vergleich zu den meisten anderen afrikanischen Ländern wurde Äthiopien nie kolonialisiert und nur während des zweiten Weltkrieges fünf Jahre lang vom faschistischen Italien besetzt. Danach wurde das Land wieder eigenständig durch Kaiser Haile Selassie regiert, der 1974 vom Militär gestürzt wurde. Das Militärregime (Derg) blieb bis 1991 an der Macht und kollabierte erst nach einer schweren Hungersnot und dem andauernden Bürgerkrieg. Ein Oppositionsführer der Volksbefreiungsfront von Tigray, Meles Zenawi, wurde erst Chef der Übergangsregierung und später Ministerpräsident. Meles Zenawi blieb bis zu seinem Tod 2012 Regierungschef. Heute ist Hailemariam Desalegn Ministerpräsident Äthiopiens und Vorsitzender der African Union (AU) mit Hauptsitz in Addis Abeba, der Hauptstadt Äthiopiens [57, 58].

Trotz des Sitzes der AU, der schnell wachsenden Wirtschaft und der geschichtsträchtigen Vergangenheit, bleibt Äthiopien ein Entwicklungsland. Die Vereinten Nationen errechneten 2014 für Äthiopien einen Human Development Index (HDI) von 0,442, welches dem Rang 174 von 188 erfassten Ländern entspricht. Dieser Rang spiegelt die Situation in Bildung, Infrastruktur, aber auch im Gesundheitssystem wieder [59].

Die etwa 85 Millionen Einwohner Äthiopiens sind 80 Ethnien zugeordnet und sprechen insgesamt 80 Sprachen und Dialekte. Laut Volkszählung 2007 sind 43,5% äthiopisch-orthodoxe Christen, 33,9% Muslime, 18,6% Protestanten, 0,9% katholische Christen und 3,3% Natur- oder anderen Religionen angehörig [60]. Mehr als dreiviertel der Bevölkerung lebt auf dem Land und weniger als ein Viertel in Städten [60, 61].

Die Geographie des Landes spielt in Bezug auf die Erreichbarkeit des Gesundheitssystems eine maßgebliche Rolle, denn große Teile Äthiopiens liegen im Hochland auf bis zu 4 550 Metern Höhe (Ras Dashen) und sind daher nicht gut erreichbar. Andere Gebiete des Landes, vor allem die Affarregion, liegen auf oder unter Meereshöhe, wie zum Beispiel die Danakilwüste (110m.u.M.). Diese Höhenunterschiede haben eine starke Schwankung der klimatischen Bedingungen in Äthiopien zur Folge, so dass die Lebensräume stark variieren [61].

Die erste gesundheitspolitische Strategie wurde in den 1960er Jahren von der WHO formuliert, woraufhin die Regierung das Health Sector Development Program gründete. Es umfasste Schwerpunkte wie die Mutter- und Kindversorgung und die Senkung der Ausbreitung von übertragbaren Erkrankungen wie Tuberkulose, Malaria und später auch HIV. Das Health Extension Program (2003) soll ein flächendeckendes Basisgesundheitsystem bieten, welches Bereiche wie einfache kurative Maßnahmen, Prävention und Bildung im Bereich Gesundheitsverhalten abdeckt [61, 62].

Der Zugang zu Schulbildung ist, wie in vielen Entwicklungsländern, hauptsächlich in den Städten gewährleistet. Laut DHS 2011 können 59,4% der Frauen nicht lesen und nur 11,2% haben die Oberstufe besucht [61].

Noch immer gebären 89,5% der Frauen zu Hause und die Müttersterblichkeitsrate liegt bei 353 / 100 000 Lebendgeburten (vgl. Deutschland 6 / 100 000) [61, 63]. Die Probleme einer Frau, vor allem im gynäkologischen Bereich, werden oft nicht angesprochen oder sogar verheimlicht. So kommen Frauen mit Anzeichen eines Zervixkarzinoms oft erst dann ins Krankenhaus, wenn sie bereits längere Zeit bluten oder andere Symptome aufweisen [64].

1.5 Zervixkarzinome und HPV in Äthiopien

So wie in den meisten Entwicklungsländern stellen HPV-Erkrankungen und das Zervixkarzinom in Äthiopien ein großes gesundheitliches Problem dar. Laut Globocan hat Ostafrika die höchste Zervixkarzinom-Inzidenz weltweit. Das seit 2011 bestehende Krebsregister in Addis Abeba errechnete für 2012 etwa 7 095 neue Zervixkarzinomfälle für Äthiopien [1]. Da dies nur eine Hochrechnung der vorstellig gewordenen Fälle ist, muss die Dunkelziffer deutlich höher liegen.

Drei äthiopische Studien stellten große Defizite im Wissen um die Krebsvorsorge und das Zervixkarzinom in der Bevölkerung fest. Viele Frauen, vor allem auf dem Land, wussten nichts über diese Erkrankung oder glaubten an soziales, sexuelles oder religiöses Fehlverhalten und mangelnde Hygiene als Ursache ihrer Symptome. Traditionelle Heiler würden bei der Behandlung häufig bevorzugt und aus Angst vor Stigmatisierung und Ausgrenzung erste Symptome lange verheimlicht [64, 65]. Viele der Befragten wussten nicht, wo sie zur Krebs-

vorsorge gehen könnten und fühlten sich außerdem zu jung, um daran teilzunehmen [66]. Dies führt dazu, dass nur 0,6% der äthiopischen Frauen an einer Vorsorgeuntersuchung teilnehmen [67].

Die medizinische Versorgung im Bereich Gynäkologie unterliegt in Äthiopien einem großen Stadt-Land-Gefälle. Durch die bereits beschriebenen geographischen und infrastrukturellen Bedingungen ist die Erreichbarkeit von Gesundheitsstationen und Krankenhäusern in großen Teilen des Landes nicht gewährleistet. Zudem bieten nur Privat- oder Universitätskliniken eine ausreichende pathologische Begutachtung an. Ein Screening auf Zervixkarzinome und prä-invasive Läsionen gab es bislang nur vereinzelt, jedoch soll in den nächsten Jahren ein flächendeckendes VIA-Screening von der Regierung eingeführt werden [68]. In den letzten Jahren haben NGOs wie Pathfinder und SPIRES die Screen-and-Treat Methode (VIA und Kryotherapie) in Äthiopien unterstützt [69]. Diese Methode benötigt wenig Material und eine Kryotherapie kann bei auffälligen Läsionen in der gleichen Sitzung durchgeführt werden. Dies wird der Tatsache gerecht, dass viele Patientinnen nach einem ersten Besuch nicht wiederkommen. Diese o.g. Organisationen legen jedoch besonderen Wert auf das Screening von HIV positiven Frauen, die jedoch nur etwa 2% der weiblichen Bevölkerung ausmachen, aber aufgrund der reduzierten Immunität einen höheren Prozentsatz an präinvasiven und invasiven Läsionen aufweisen [61, 70].

Therapieoptionen für das invasive Zervixkarzinom sind in den meisten Teilen des Landes sehr beschränkt. Nur in Addis Abeba kann stadiengerecht operiert und/oder eine kombinierte Radiochemotherapie angewandt werden. In den nächsten Jahren sollen, unterstützt durch das Gesundheitsministerium, fünf weitere Bestrahlungsgeräte an Universitäten in anderen Teilen des Landes etabliert werden. Zusätzlich bildet die onkologische Abteilung im Black Lion Hospital in Addis Abeba jetzt Onkologen aus. Seit November 2011 wird in Addis Abeba unter der Leitung von Dr. Mathewos ein populationsbasiertes Krebsregister geführt. Bisher fließen nur Daten aus der Hauptstadt in das Register ein, da nur dort die nötige Diagnostik möglich ist. Heute werden in Addis Abeba an 18 Zentren Daten für das Krebsregister gesammelt.

Eine HPV-Impfung wurde in Äthiopien noch nicht eingeführt. Dies liegt zum einen an der unzureichenden Datenlage zu HPV in Äthiopien und den hohen Kosten des Impfstoffs, zum anderen aber auch an Defiziten in der Sicherung einer Kühlkette [71]. Ende 2015 lief jedoch ein Pilotprojekt an, welches als Kriterium zur finanziellen Unterstützung der flächendeckenden HPV-Impfung durch die GAVI-Alliance gilt [72].

Daten zu HPV-Infektionen in der Normalbevölkerung in Äthiopien beschränken sich auf zwei Untersuchungen von Frauen zwischen 18-65 (n=189) bzw. 15-64 (n=537) Jahren in der Ambulanz des Attat Hospitals, ländliche Gurage Region. Die HPV-Gesamtprävalenz lag bei

15,9 bzw. 17,3%, wobei jüngere Frauen deutlich höhere Prävalenzen aufwiesen [73, 74]. Die häufigsten Hochrisiko-Typen waren HPV 16, 52, 31, 56, 51, 35 und 39 (nach Prävalenz geordnet) [74].

Es wurden drei weitere Studien zu HPV bei Frauen mit auffälligem Abstrich, sei es durch Inflammation oder Zervixkarzinom, durchgeführt. Eine Studie aus Jimma zeigte bei Frauen mit auffälligem Befund (Zervizitis bis Zervixkarzinom) eine HPV-Prävalenz von 67,2%. In 81 von 82 HPV positiven Fällen lag bereits ein Zervixkarzinom vor [75]. Die Publikation aus Gondar zeigte eine HPV-Prävalenz von 99,3% bei Plattenepithel-Karzinomen und 88,5% bei CIN-Läsionen [76]. Eine letzte Studie aus Addis Abeba wies in Paraffinschnitten von 170 CIN- und Zervixkarzinompatientinnen 93% HPV positive Fälle nach [77]. Durch diese Studien wird klar, dass auch in Äthiopien die Assoziation zwischen HPV und Zervixkarzinomen außer Frage steht.

2 Zielstellung

2.1 Hintergrund und Zielstellung der Studie

Das primäre Ziel der Studie bestand darin, die HPV-Prävalenz bei gesunden 18 bis 45-jährigen äthiopischen Frauen aus der Schwangerenvorsorge zu bestimmen, sie nach Risikofaktoren zu befragen und auf korrelierende Koinfektionen zu untersuchen. Da Äthiopien einem starken Stadt-Land-Gefälle unterliegt, sollten Unterschiede in der HPV-Prävalenz diesbezüglich untersucht werden. Die Frauen suchten aufgrund ihrer Schwangerschaft und nicht wegen klinischen Symptomen das Krankenhaus auf, so dass diese Population annähernd eine Stichprobe der Normalbevölkerung dieser Altersgruppe repräsentiert. Langfristig soll eine verbesserte Studienlage ein besser ausgebautes Screening-Programm und/oder die Einführung einer HPV-Impfung fördern. Ein Land ohne Vorsorge und Therapie des Zervixkarzinoms würde stark von einer Immunisierung im Jugendalter profitieren.

Da andere vaginale Infektionen, wie zum Beispiel Chlamydien und Herpesviren möglicherweise zur Persistenz von HPV beitragen und für Frauen im reproduktiven Alter gesundheitlich relevant sind, wurden Daten zu STIs und der vaginalen Flora erhoben [78-81]. Gleichzeitig sollten allgemeine Risikofaktoren für Karzinom- und Infektionserkrankungen eruiert werden, um ein möglicherweise karzinomförderndes Potenzial aufzuzeigen und die in die Studie eingeschlossene Bevölkerung besser beschreiben zu können.

Zu diesem Zweck wurden 2013 und 2014 in sieben Teilen Äthiopiens insgesamt 784 Frauen untersucht. Es wurde eine vaginale Probe entnommen, ein Fragebogen mit 37 Fragen beantwortet und Blut abgenommen. Alle Proben und Fragebögen wurden anonymisiert. Das Ethikvotum zur Durchführung der Studie wurde als Erweiterung und Verlängerung des bereits bestehenden Votums vom 24.02.2011, am 03.04.2013 von der Ethikkommission der Addis Ababa University erteilt (Titel: Epidemiologic Survey of Ethiopian Urban and Rural Areas on Breast Cancer and Other Gynaecological Cancer-Prevalence and Clinical Epidemiology).

2.2 Fragestellungen

- 1. Wie häufig sind vaginale humane Papillomviren bei symptomlosen Schwangeren in Äthiopien nachzuweisen?**
- 2. Welche HPV-Typen sind nachzuweisen?**
- 3. Bestehen Unterschiede in der HPV-Prävalenz zwischen ländlichen und städtischen Regionen?**

4. Welche demographischen und reproduktiven Kofaktoren korrelieren mit HPV-Infektionen?
5. Wie häufig sind HPV-Antikörper bei symptomlosen schwangeren Frauen in Äthiopien?
6. Wie häufig sind STIs (Sexually Transmitted Infections) und andere vaginale Keime bei symptomlosen schwangeren Frauen in Äthiopien?
7. Wie häufig liegt eine vaginale Milieuveränderung im Sinne einer Bakteriellen Vaginose bei symptomlosen schwangeren Frauen in Äthiopien vor?
8. Welche vaginalen Keime korrelieren in diesem Kollektiv mit HPV-Infektionen?

3 Material und Methodik

3.1 Material

3.1.1 Aufklärung und Fragebogen

Die schriftliche Aufklärung und der Fragebogen liegen auf Englisch, Amharisch und Afaan Oromo vor (siehe Anhang).

3.1.2 Vaginale Probe

Die vaginalen Proben wurden 2013 und 2014 mit Hilfe des sogenannten Delphi-Screeners (Abb. 3) an sieben verschiedenen medizinischen Einrichtungen in Äthiopien (Abb. 2) gesammelt und in einem Methanollpuffer konserviert. Der Methanollpuffer war zweifach-konzentriert und nach Rezeptur des kommerziell erwerblichen PreserveCyt im DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum) hergestellt (s.u.). Die Proben wurden einige Monate bei Raumtemperatur (20-30°C) gelagert, bis sie im DKFZ bei +4 °C aufbewahrt werden konnten.

Material zur Probenabnahme

| Bezeichnung | Hersteller |
|--|--|
| Costar Stripette 10ml | Corning Incorporated, Corning, NY, USA |
| Delphi Self Screener (Abb. 3) | Delphi Bioscience, Scherpenzeel, Niederlande |
| Parafilm M | Pachiney Plastic Packaging, Akron, Ohio, USA |
| Safetybag (Biological Substance Cat. B) | Deklapack, Oberhausen, Deutschland |
| Untersuchungshandschuhe Vinyl Powderfree | Hartmann, Heidenheim, Deutschland |
| Zentrifugenröhrchen 15ml | TPP, Trasadingen, Schweiz |

Lagerungspuffer (2-fach konzentriert):

Nach Rezeptur des PreservCyt®, Hologic Inc., Marlborough, Massachusetts, USA

| | |
|--|-------------------|
| Methanollpuffer 200ml (2x) Puffer (1,50%): | 2,4ml 0,5M EDTA |
| | 140µl Eisessig |
| | ad 200ml Methanol |

Material für die Probenaufbereitung und Analyse

| Bezeichnung | Hersteller |
|--|---|
| <u>Verbrauchsmaterial</u> | |
| 96-Loch PCR Platte | Sorenson, Bioscience Inc., Murray, Utah, USA |
| 96-Loch Filter Platte | Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland |
| MagNA Pure 96 Output Plate | Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz |
| MagNA Pure 96 Processing Cartridge | Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz |
| MagNA Pure 96 Sealing Foil | Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz |
| MagNA Pure 96 Tips (1000µl) | Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz |
| TipOne 1000µl Filterspitzen (steril) | Starlab, Hamburg, Deutschland |
| <u>Geräte</u> | |
| Cobas Z 480 Analyzer | Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz |
| Luminex Reader | Luminex Corp. Austin, Texas, USA |
| MagNA Pure 96 | Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz |
| Mastercycler | Eppendorf, Hamburg, Deutschland |
| Mehrkanalpipette (pipet-lite) 100-1200µl LTS | Rainin Instrument, Oakland, Kalifornien, USA |
| QIAGEN Pipettierroboter | Qiagen, Hilden, Deutschland |
| Vortex | Kurt Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland |
| <u>Kommerziell erwerblich Kits</u> | |
| MagNA Pure 96 DNA and Viral Na Large | Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz |
| Volume Kit | |
| Multiplex PCR Kit 1000 | Qiagen, Hilden, Deutschland |
| <u>Lösungen</u> | |
| Waschpuffer | 0,02% Tween 1 x PBS, pH 7,4 |
| PCR-Mastermix | 2x QIAGEN Multiplex MgCl ₂ BS Patent Primer C348 (100µM pro Primer) β -Globin C349 (100µM pro Primer) PC_PCR (Positivkontrolle) RNase-freies Wasser |
| Hybridisierungs-Mix | 33µl von 0.15M TMAC Hybridisierungslösung 7µl TE Bead Mix C485/C503 H ₂ O Hyb control (10fmol/Reaktion) (stock 1pmol) (Positivkontrolle) |

Stainingpuffer 50µl von 2.0 TMAC Stainingpuffer + 500µl extra
Streptavidin 1/1600 (Invitrogen, Molecular probes)

3.1.3 Blutprobe

Probenmaterial

Die Blutproben wurden von April bis Juli 2013 und April bis September 2014 gesammelt und auf Protein Saver Cards mehrere Monate bei Raumtemperatur (20-30°C) trocken gelagert. Im DKFZ wurden sie später bei +4°C gelagert.

Material zur Blutabnahme

Bezeichnung

Hersteller

| | |
|------------------------------------|--|
| 903 Protein Saver Cards | Whatman, GE Healthcare, Little Chalfont, UK |
| Disposable blood collection needle | Hongyu medical devices co. LTD. China |
| EDTA K3 Vacuum Tube 4/5ml | Hongyu medical devices co. LTD. China |
| Eppendorf Reference 100µl | Eppendorf, Hamburg, Deutschland |
| S-Monovette (EDTA) 2,7ml K3E | Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland |
| S-Monovette®-Kanüle | Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland |
| Spitzen | Fa Meus SRL, Diagnostici per Analisi, Piove die Sacco, Italien |
| DesiDry Silicagel Beutel | ThoMar OHG, Lüttau, Deutschland |

Material zur Analyse

Das Material zur Analyse der Blutproben wie von T. Waterboer beschrieben [82, 83].

3.1.4 Software zur Auswertung und Darstellung

| | |
|------------------------------------|---|
| Adobe Reader XI | Adobe Systems, San José, Kalifornien, USA |
| Endnote X6 | Thomson Reuters, New York City, New York, USA |
| GraphPad Prism 6.0 Mac OS X | GraphPad Software, Inc., La Jolla, Kalifornien, USA |
| Luminex 100 IS 2.3 SP1 Software | Luminex Corp., Austin, Texas, USA |
| Microsoft Office 2011 for Mac OS X | Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA |
| SAS 9.2 | SAS Institute Inc., North Carolina, USA |
| Sigma Plot 13 | Systat Software Inc., Erkrath, Deutschland |
| SPSS 22 IBM | SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA |

3.2 Methodik

3.2.1 Kollektiv

Das Ziel war es, eine Aussage über die HPV- und STI-Prävalenz in der Normalbevölkerung treffen zu können. Aufgrund enger Wohnverhältnisse und logistischer Probleme konnten Probandinnen nicht zuhause aufgesucht beziehungsweise eine vaginale Probe in einer Hütte entnommen werden, die gleichzeitig von einer Großfamilie bewohnt wird. Als Alternative bot sich die Schwangerenvorsorge an, bei der in klinischer Umgebung junge Frauen untersucht werden konnten, die diese Einrichtung nicht aufgrund eines medizinischen Problems aufsuchten. Aus diesem Grund sollten auch nur symptomlose Frauen untersucht werden. So wurden auch einige Frauen (n=34) aus der Verhütungssprechstunde in die Studie aufgenommen. Die Probandinnen waren zwischen 18 und 45 Jahren und wiesen verschiedene Wohnverhältnisse und Bildungsniveaus auf. Eine nähere Beschreibung der Studienpopulation anhand des Fragebogens erfolgt im Abschnitt 4.3. Um ein breites Spektrum an Ethnien, Religionen und Lebensverhältnissen zu erreichen, wurden Proben in der Hauptstadt, in kleineren Städten und auf dem Land abgenommen.

Einige Frauen wurden aus der Studie ausgeschlossen, da die Anwendung des Delphiscreeners bei Frauen mit bestimmten Komplikationen (s.u.), als zu risikoreich angesehen wurde. Diese Entscheidung erfolgte vor allem aufgrund der mechanischen Belastung der Zervix durch den Screener und weniger aus Sorge um das irritative Potential der Spüllösung (gepuffertes NaCl), welche etwa dem vaginalen pH entspricht. Frauen mit Plazenta praevia, schwerer Präeklampsie, mehrfachen Aborten, bestehenden Wehen oder vorzeitigem Blasensprung, sowie Frauen, die nach ausführlicher Aufklärung nicht bereit waren, an der Studie teilzunehmen, wurden nicht in die Studie aufgenommen.

3.2.2 Wahl der Einrichtungen

Die Wahl der Studienorte verfolgte das Ziel, der geographischen und ethnischen Vielfalt Äthiopiens gerecht zu werden (Abb. 2). Da Äthiopien über 80 Sprachen und Ethnien verfügt, ist die Bevölkerung kulturell sehr inhomogen. Hinsichtlich des zeitlichen Aufwands eines Ortswechsels, der Bürokratie und des Trainings von Personal, war es nicht möglich mehr als sieben Orte zur Datenerhebung in die Studie einzuschließen. Zu zwei Sammelzeitpunkten in 2013 und 2014 konnten an insgesamt sieben Orten alle häufigen Ethnien und Religionen eingeschlossen und zusätzlich ländliche und städtische Gebiete verglichen werden.

Zusätzlich wurden unterschiedliche Arten der medizinischen Einrichtungen in die Studie einbezogen. Hierzu zählten Health Centers (Addis Abeba), staatliche (Ginir, Harar, Wukro) und private Krankenhäuser (Aira), sowie Universitätskliniken (Bahir Dar, Mekelle).

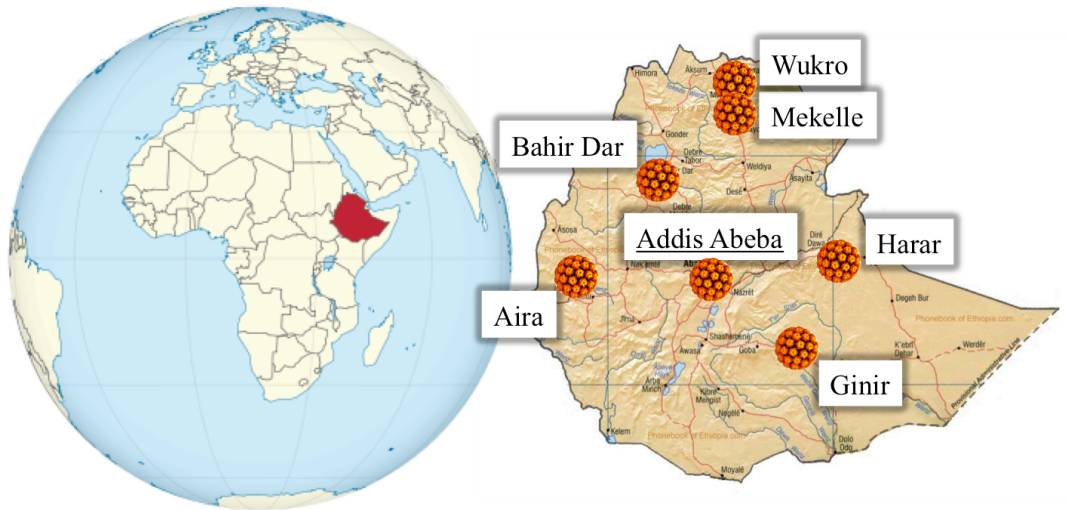


Abbildung 2: Äthiopien mit eingetragenen Studienorten (modifiziert) [12, 84, 85]

3.2.3 Aufklärung und Einverständniserklärung

Jede Frau wurde vor der Untersuchung ausführlich über die Studie und ihren Zweck aufgeklärt (siehe Anhang). Schwerpunkte lagen hierbei auf der Entstehung des Zervixkarzinoms, dessen Zusammenhang mit HPV und der Möglichkeit einer Impfung gegen bestimmte HPV-Typen. Zusätzlich wurden sie auch über andere vaginale Infektionskrankheiten informiert, die bei der Studie mituntersucht werden sollten. Es wurde deutlich erklärt, dass die Probandinnen keinen Schaden, aber auch keinen direkten Nutzen durch ihre Teilnahme hätten, aber nachfolgende Generationen von Präventionsmaßnahmen wie der Einführung einer Impfung und eines flächendeckenden Screeningprogramms in Äthiopien profitieren würden. Gleichzeitig wurde in der Aufklärung auf Warnzeichen gynäkologischer Erkrankungen hingewiesen, um Frauen dazu zu bewegen, bei ungewöhnlicher, vaginaler Blutung frühzeitig einen Arzt aufzusuchen. Das Einverständnis wurde, aufgrund der recht hohen Analphabetenrate, in Form einer mündlichen Einwilligung gegeben. Den Frauen reichte diese Art von Einverständnis über die ihnen vertrauten Vorsorgekrankenschwestern und Hebammen aus. In jeder Einrichtung wurden zunächst Probegespräche unter Aufsicht eines Übersetzers geführt (siehe 3.2.4), um die inhaltlich korrekte Wiedergabe der Information zu sichern.

3.2.4 Fragebogen

Bei dem verwendeten Fragebogen handelt es sich um eine leicht modifizierte Version des IARC-Fragebogens (International Agency for Research on Cancer), der für eine HPV-

Prävalenzstudie 2005-2008 in der Mongolei verwendet wurde [86]. Fragen, die sich auf postmenopausale Frauen bezogen oder anderweitig mit einer Schwangerschaft nicht vereinbar waren (Sterilisation), wurden aus dem Fragebogen genommen und Fragen zur Schwangerschaft selbst hinzugefügt. Auch länderspezifische (Religionen, Ethnien) oder kulturbezogene Fragen (Beschneidung) wurden angepasst oder ergänzt. Mit dieser Version des Fragebogens war es möglich einen Überblick über die Studienpopulation zu gewinnen und Risikofaktoren für STIs und Zervixkarzinome zu erfassen.

Der Fragebogen schließt sechs Themenbereiche ein, die zur Erfassung von Risikofaktoren für HPV-Infektionen und die Entstehung von Zervixkarzinomen relevant erschienen (siehe Anhang).

Im ersten Abschnitt (101-110) werden soziodemographische Daten zu Wohnort, Beruf, Bildung, Beziehungsstatus, ethnischer Herkunft und Religion erfragt. Die Fragen 201-209 befassen sich mit reproduktiven Faktoren. Hier geht es hauptsächlich um Menarche, Anzahl geborener Kinder, Ort der Geburten und um die Anzahl spontaner und induzierter Aborte. Der dritte Themenbereich (301-303) erfasst Verhütungsmethoden und die Dauer der Einnahme von Hormonpräparaten. Mit der medizinischen Anamnese der Frauen befasst sich der vierte Bereich (401-403). Hier wird jedoch nur nach Krebsvorsorge, Zervixkarzinomen und Dysplasien gefragt. Als wichtige systemische Erkrankung in Entwicklungsländern wird hier auch die Tuberkulose aufgeführt. Die Fragen 501-503 befassen sich mit dem Rauchen als Risikofaktor für Krebserkrankungen. Der letzte Abschnitt dient der Sexualanamnese. Er bezieht sich vor allem auf das Alter bei erstem Geschlechtsverkehr, Beschneidung und weitere Frauen des Ehemanns. An den Fragebogen sind noch zwei weitere Fragen angegliedert, die für die Auswertung der Proben relevant erschienen. Es wird nach vaginalem „Douching“ gefragt und danach, ob in den letzten 2 Tagen Geschlechtsverkehr stattgefunden habe. Für jede schwangere Frau wurde außerdem der Schwangerschaftsmonat notiert und mittels Maßbands (Symphysen-Fundus-Abstand) nachgemessen.

Der Fragebogen wurde von Israel Mitiku und Serebe Abaye (Studenten des Public Health Instituts, Addis Abeba University) in drei Sprachen übersetzt, um den verschiedenen ethnischen Gruppen des Landes gerecht zu werden. Um mögliche Zweideutigkeiten auszuschließen, wurde der Fragebogen von einem Muttersprachler wieder ins Englische übersetzt. Aufgetretene Fragen konnten besprochen und Formulierungen im Fragebogen angepasst werden. Die Fragebögen wurden in den verschiedenen Regionen getestet, um mögliche Unklarheiten im Voraus zu beseitigen. Die Änderungsvorschläge bezogen sich vor allem auf regional unterschiedlich gebräuchliche Wörter und wurden angeglichen. Der Fragebogen liegt in Englisch, Amharisch, Afaan Oromo und Tigrinya vor (siehe Anhang).

Um das Vertrauen der Probandinnen zu gewinnen und die Beteiligung an der Studie zu erhöhen, sollten Krankenschwestern der jeweiligen Schwangerenvorsorge über die Studie aufklären und den Fragebogen mit den Probandinnen durchgehen.

Am ersten Tag wurden die Aufklärung und der Fragebogen erklärt, auf schwierige Fragen hingewiesen und Hilfestellungen zur Beantwortung der Fragen geliefert. Am darauffolgenden Tag sollten die Krankenschwestern unter Aufsicht einige Frauen befragen, die nicht in die Studie eingeschlossen wurden, um dann mit der Datensammlung zu beginnen.

Durch die knappe und eindeutige Fragestellung gab es in der Anwendung des Fragebogens von Seiten der Interviewer kaum Probleme. Trotzdem wurde für die englische Version eine Hilfestellung erstellt, die bei einigen Fragen alternative Herangehensweisen erläuterte. Dies war vor allem deswegen notwendig, weil gerade die ländliche Bevölkerung nicht kalendarisch denkt. Viele Frauen hatten Schwierigkeiten, sich an ihr Alter bei einem bestimmten Ereignis, wie etwa der Menarche, zu erinnern. In diesem Fall sollte eine Näherung dadurch erbracht werden, indem nach Schuljahr oder anderen, parallelen Ereignissen gefragt wurde. Generell wurde der Fragebogen gut akzeptiert und die Frauen gaben bereitwillig zu den meisten Fragen eine Antwort.

3.2.5 Vaginale Probe

Zur Abnahme der vaginalen Probe mit der Möglichkeit einer HPV-Testung wurde der Delphi Screener (Delphi Bioscience, BV Scherpenzeel, Niederlande) verwendet (Abb. 3). Dieses vaginale Lavagesystem ist eine verlässliche Alternative zum PAP-Abstrich und eignet sich für ressourcenärmere Länder, da weder ein gynäkologischer Untersuchungsstuhl, noch ein Spekulum benötigt wird [87]. Die meisten Einrichtungen in Äthiopien bieten weder das eine noch das andere, so dass bei ähnlicher Sensitivität der Screener als die bessere Wahl erschien. Da viele äthiopische Frauen noch nie vaginal untersucht wurden, wäre eine Spekulumuntersuchung erschwert gewesen und hätte die Bereitschaft, an der Studie teilzunehmen, erheblich gesenkt. Durch die logistisch erforderliche monatelange Konservierung des gewonnenen Materials in Methanol war eine Zytologie nicht möglich, weswegen die Proben keinen Aufschluss über mögliche zervikale Läsionen zulassen.

Die Analyse der Proben wurde in Zusammenarbeit mit dem DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum) in Heidelberg durchgeführt. Die Multiplex Papillomvirus Genotypisierung (MPG, Abb. 4) mittels GP5+/6+ Primern ist eine häufig verwendete Methode zur Analyse von humanen Papillomviren in Zervixmaterial [88]. Ein Nachteil dieser Methode ist jedoch die etwas niedrigere Detektionsrate bestimmter HPV-Typen (bspw. HPV 53), die zu einer Unterschätzung der HPV-Prävalenz führen könnte [89]. Um die Sensitivität zu erhöhen, wurden

die Methode von M. Schmitt am DKFZ durch weitere zehn Primer (BSGP5+/6+) ergänzt [90]. Diese Methode wurde auch in der vorliegenden Studie angewendet, um die vaginalen Proben auf 51 HPV-Typen zu untersuchen.

Um einen Überblick über vorhandene Geschlechtskrankheiten zu bekommen, wurde außerdem eine weitere Bead-basierte Multiplex-PCR für STIs durchgeführt. Diese Methode weist nicht nur vaginale Infektionen nach, sondern lässt auch Rückschlüsse auf eine Verschiebung des vaginalen Milieus im Sinne einer Bakteriellen Vaginose zu und wurde im Jahr 2014 erstmals von M. Schmitt beschrieben [91].

Durch räumliche Gegebenheiten und die unterschiedliche Rollenverteilung des Personals an jedem Studienort musste die Reihenfolge etwas angepasst werden, um den normalen Ablauf der Schwangerenvorsorge nicht zu behindern. Die Schwangerenvorsorge fand in den meisten Fällen in ein oder zwei Räumen statt und wurde von zwei bis fünf Krankenschwestern durchgeführt. Einverständniserklärung und Fragebogen wurden entweder am Beratungstisch oder einem separaten Schreibtisch ausgefüllt, wo auch die Blutabnahme erfolgte. Für die vaginale Probe wurde eine abgeschirmte Liege, beziehungsweise ein angrenzender Raum verwendet, um die Privatsphäre der Frauen zu wahren. Es war an jedem Ort möglich, die Studie in den gewohnten Vorsorgeablauf zu integrieren. In Addis Abeba und Mekelle wurden die Proben von der Doktorandin, in Wukro, Aira und Bahir Dar von Ann-Katrin Pannen, in Addis Abeba, Ginir und Harar von Johanna Komp gesammelt.

Für die Abnahme der vaginalen Probe wurde der Delphi-Screener (Abb. 3) verwendet. Der spritzenähnliche Screener mit atraumatischer Spitze enthält 3ml einer sterilen Natrium-Chlorid-Lösung, welche nach dem Einführen in die Vagina per Knopfdruck freigesetzt werden kann. Nach drei Sekunden wird durch Loslassen des Knopfes ein Vakuum erzeugt, welches die Flüssigkeit wieder in den Screener zurückzieht.

Die Lösung, die vaginale und zervikale Zellen enthielt, wurde in ein Röhrchen mit Methanolpuffer überführt, in dem das Probenmaterial konserviert und transportiert wurde. Um eine Kreuzkontamination von Probe zu Probe zu vermeiden, wurden die Deckel mit Parafilm versiegelt und jedes Röhrchen in eine eigene Tüte verpackt.

Da der Delphi Screener ein Self-Sampler ist, war er sehr leicht in der Handhabung. Den Frauen wurde angeboten, die Probe selbst abzunehmen, was jedoch nur ungern angenommen wurde. Einerseits stellte der Bauchumfang bei Hochschwangeren ein Hindernis dar, andererseits hatten die Frauen Hemmungen, ein ihnen völlig unbekanntes Gerät zu benutzen.



Abbildung 3: Delphi-Screener (Delphi Bioscience) [92]

Die Akzeptanz dieser Methode war bei Mehrgebärenden sehr hoch, da ihnen eine vaginale Untersuchung nicht unangenehm war. Bei jüngeren Frauen, vor allem bei Erstgebärenden, war die Untersuchung generell eher angstbesetzt, da viele von ihnen noch nie gynäkologisch untersucht worden waren. Auch diese Frauen empfanden die Abnahme selbst nicht als unangenehm.

Eine dauerhafte Kühlung der Proben vor Ort ließ sich nicht sicherstellen. Um die DNA der vaginalen Proben über längere Zeit bei Raumtemperatur (20-30°C) zu konservieren und zu fixieren, wurden die Proben in einen 2-fach konzentrierten Methanollpuffer überführt. Hierzu wurden 3ml des Puffers im Voraus in 15ml Zentrifugenröhrchen aliquotiert und später durch die Probe (ca. 0,5-3ml) ergänzt.

3.2.6 Untersuchung der vaginalen Probe auf HPV mittels MPG

Alle folgenden Laboranalysen wurden zusammen mit der Arbeitsgruppe Pawlita (Angewandte Tumorstudiologie) im DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum) in Heidelberg durchgeführt.

Um die vaginalen Proben mittels Multiplex Papillomvirus Genotypisierung (MPG) auf HPV-DNA zu untersuchen, musste die genomische DNA zunächst aus den Zellen isoliert werden. Für die DNA-Extraktion wurde der MagNA Pure 96 von Roche verwendet. Die Proben wurden zuerst mittels Vortex gründlich durchmischt, je 500µl mit einer Mehrkanalpipette auf eine 96-Loch-Platte überführt, mit Folie überzogen und bei +4°C bis zur Extraktion gelagert. Die Extraktion mit MagNA Pure 96 wurde unter Verwendung des MagNA Pure 96 DNA and Viral Na LV Kit und nach dem Pathogen Universal 500 2.0 Protokoll durchgeführt. Die extrahierte DNA wurde in 50µl eluiert und bis zur PCR in einer 96-Loch Output-Platte bei -20°C gelagert.

Da die Menge der zurückgewonnenen Flüssigkeit sehr variabel war, wurde die DNA-Menge, durch die Bestimmung des β -Globins in den unterschiedlich vollen Gefäßen gemessen. β -Globin kommt mit einer Kopie pro DNA-Strang ubiquitär vor und kann so als interne Kontrolle

für das Vorhandensein menschlicher DNA verstanden werden. Die Gefäße enthielten 3ml Methanollpuffer und 0,1-3ml vaginaler Spüllösung, je nachdem wie viel Flüssigkeit zurückgewonnen werden konnte. Proben mit wenig Probenmaterial (n=20) enthielten 3,1-3,5ml Flüssigkeit, während Proben mit viel zurückgewonnenem Material (n=20) mindestens 6,0ml aufwiesen. Defizite in der Auswertbarkeit sollten mittels quantitativer PCR im Voraus ausgeschlossen werden.

Die PCR wurde mittels Cobas Z 480 Analyzer von Roche unter Verwendung des LightCycler 480 Probes Master Kits (Roche) an bereits extrahierter DNA durchgeführt. Bei dieser Methode kann nach jedem der 45 PCR-Zyklen die Leuchtintensität von bis zu vier verschiedenen PCR Produkten gemessen werden, in diesem Fall HPV16, HPV 18 und β -Globin.

Die Amplifizierung weist anfangs eine exponentielle Steigerung der PCR-Produkte und später ein Plateau auf, welches durch einen Mangel an Primern und Nukleotiden zustande kommt. Parallel wird eine Sequenz mit bekannten Konzentrationen (humane Plazenta-DNA 100-0,01ng) amplifiziert und eine Standardkurve erstellt. So kann mittels Regressionsanalyse ein Rückschluss auf die Kopienzahl der analysierten DNA gezogen werden.

Mittels Multiplex Papillomvirus Genotypisierung (MPG) wurden die Proben auf β -Globin und 51 mukosale HPV-Typen untersucht. Um mögliche Kontaminationen zu vermeiden, wurden die einzelnen Schritte in unterschiedlichen Räumen durchgeführt, sterile Platten und Spitzen verwendet und an jeder 16. bzw. 24. Stelle eine Negativkontrolle (Elutionslösung ohne DNA) eingesetzt.

Tabelle 1: Einteilung der HPV-Typen nach Risiko

| Gruppe | HPV-Typen* |
|--------|---|
| hrHPV | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68a, 68b |
| pHPV | 26, 53, 67, 70, 73, 82 |
| lrHPV | 6, 7, 11, 13, 30, 32, 34, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 69, 71, 72, 74, 81, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 97, 102, 106, 114 |

*Einteilung erfolgt nach IARC Monographs, WHO [8]

High-risk (hr), probable high-risk (pHPV) und low-risk (lr) HPV werden abgekürzt.

Die PCR im Mastercycler (Eppendorf) ermöglicht die Amplifizierung von HPV-DNA. Mittels einer thermostabilen DNA-Polymerase wird in 40 Zyklen (Denaturierung, Primer-Anlagerung, Elongation) die HPV-DNA vervielfältigt, so dass sie später bei der Bead-Hybridisierung ein

ausreichendes Signal bewirken kann. Bei den verwendeten BSG5+/6+-Primern handelt es sich um komplementäre Sequenzen zu der konservierten L1-Region von HPV und umfasst neun Vorwärts- und drei Rückwärtsprimer. Hiermit können 100 verschiedene Typen gleichzeitig amplifiziert werden. In dieser Arbeit sollen jedoch nur die 51 mukosalen HPV-Typen untersucht werden, zu denen 14 hrHPV, sechs phrHPV und 31 lrHPV gehören (Tab. 1). Damit die amplifizierte L1-DNA im Detektionsassay nachgewiesen werden kann, ist Biotin an das 5'-Ende der Rückwärtsprimer gekoppelt.

Jeweils 5µl der bereits extrahierten Proben wurden hierfür mit Hilfe eines Pipettierroboters (QIAgility, Qiagen) in eine PCR-Platte überführt und mit 20 µl des PCR-Mastermix versehen. Nun konnte die DNA, unter Verwendung des GP56gold Protokolls, im Mastercycler (Eppendorf) amplifiziert werden.

Die Hybridisierung erfolgte an Typ-spezifische Beads, die mit Oligonukleotidsonden versehen sind und dadurch ihr spezifisches Amplikon binden können. Es wurde ein Beadmix vor der Hybridisierung hergestellt, der die Beads für alle 51 mukosalen HPV-Typen und β -Globin enthält. Zur Hybridisierung wurden 10µl aus jedem Loch der PCR-Platte entnommen, auf eine weitere 96-Loch-Platte überführt und mit 39µl Beadmix ergänzt. Durch einmaliges Aufkochen wurde die DNA denaturiert und in diesem Zustand gehalten, indem die Proben schnell auf vier Grad Celsius heruntergekühlt wurden. Zur Hybridisierung der DNA mit den Beads wurde die Platte für 30 Minuten bei 41°C in den Schüttelinkubator gestellt. Die Proben wurden in der 96-Loch-Platte zentrifugiert, um kondensierte Bestandteile wieder in die Probe aufzunehmen. Danach wurde die Gesamtmenge (49µl) in eine Filterplatte überführt. Hier wurden sie mit Waschpuffer gewaschen, um die nicht-hybridisierte DNA zu entfernen, und alle überschüssige Flüssigkeit entfernt. Der Restbestand wurde mit 49µl Stainingpuffer (Streptavidin-Phycocerythrin oder Strep-PE) aufgefüllt, um die Bead-gekoppelten PCR-Produkte zu markieren. Die Platte wurde bei Raumtemperatur für 30 Minuten in Dunkelheit inkubiert und im Anschluss drei Mal gereinigt und wieder mit 100µl Waschpuffer aufgefüllt. Diese Platte wurde nun mit dem Luminex Reader analysiert. Der Reader enthält zwei Laser. Einer detektiert die spezielle Färbung der Beadsorten, während der zweite die Reporterfluoreszenz Strep-PE der Amplicons misst. Wenn beide Signale vorhanden sind, hat die amplifizierte DNA an diesen Bead gebunden, was für das Vorhandensein dieses HPV-Typs spricht. Für jedes Loch der Platte werden mindestens 100 Beads pro Sorte erfasst und die Werte in MFI (Median Fluorescence Intensity) angegeben.

Während der PCR und der Hybridisierung wurden Leerproben, die nur Elutionslösung enthielten, und Positivkontrollen mit bekannten HPV 16 DNA-Konzentrationen mitbestimmt. Dies konnte als Referenzkonzentration und interne Qualitätskontrolle genutzt werden.

Um die Netto-MFI-Werte zu errechnen, wurde der Hintergrund (Leerproben) bestimmt und dessen 1,2-facher Median von den jeweiligen rohen MFI-Werten abgezogen. Alle Netto-MFI unter 1 sollte den Wert 1 annehmen. Nun wurden Werte über 10, plus den jeweiligen 1,5-fachen Median der Probe, als HPV positiv gewertet, während alle Werte darunter als negativ galten.

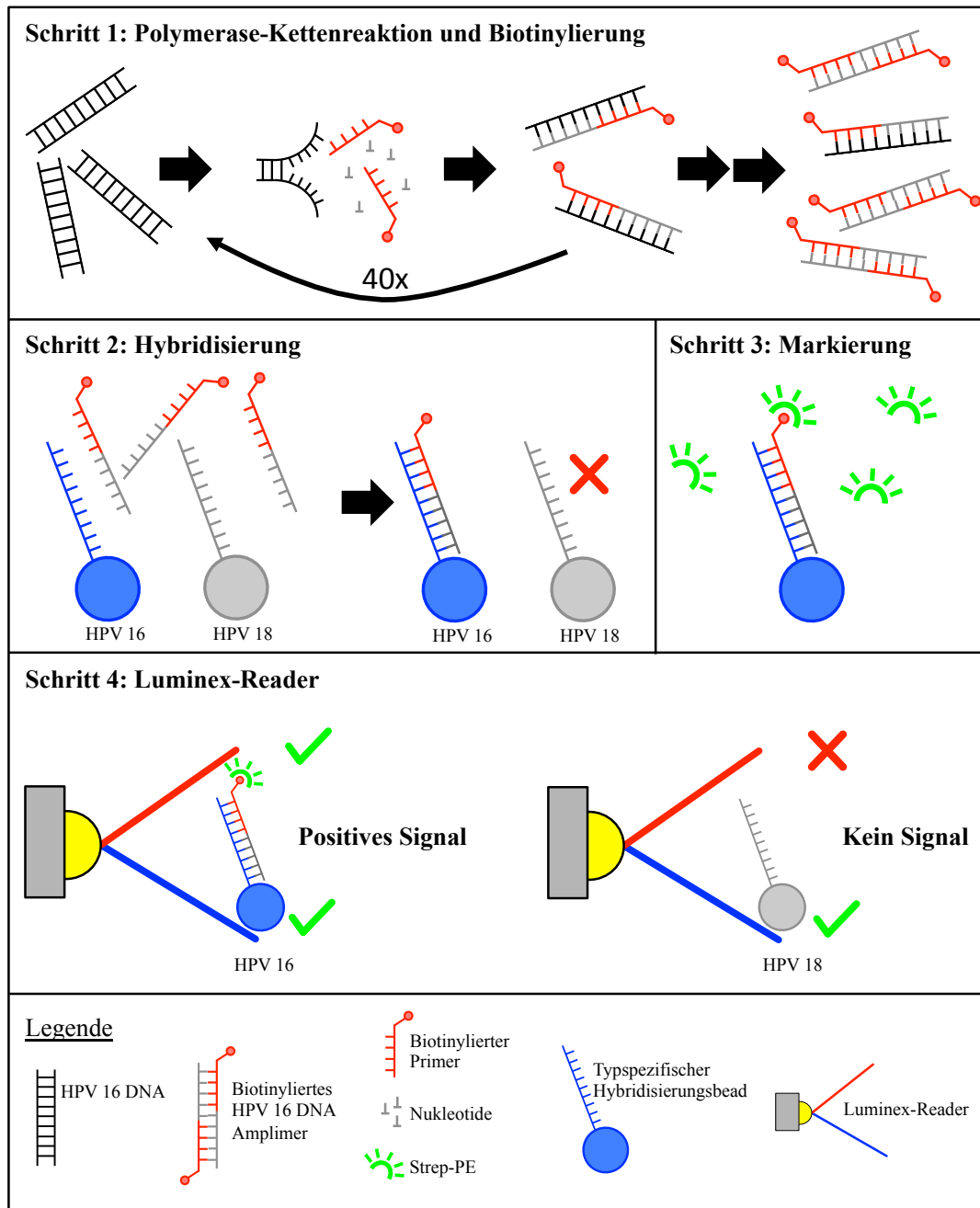


Abbildung 4: Vereinfachte Darstellung der Multiplex Papillomvirus Genotypisierung

Um die Quantität und Qualität der DNA zu untersuchen wurde das β -Globin-Gen gleichzeitig mit der HPV-DNA amplifiziert und hybridisiert. Bei negativen β -Globin und negativer HPV-DNA wurde die Probe als invalide angesehen, während eine Probe mit validem β -Globin mit oder ohne positiver HPV-DNA als valide gewertet wurde. Da die Sensitivität für β -Globin mit

steigendem HPV-Signal abnimmt und so bei HPV positiven Proben fälschlicherweise als zu niedrig gelten könnte, wurden Proben mit positivem Ergebnis für HPV, aber negativem β -Globin trotzdem als positiv gewertet.

3.2.7 Untersuchung der vaginalen Proben auf STIs mittels STIP

Mittels STI Profiling (STIP), einer Multiplex-PCR und Hybridisierung, wurde die vaginale Probe auf 18 Erreger und eine Störung der vaginalen Flora im Sinne einer Bakteriellen Vaginose untersucht. Zu den analysierten Infektionen zählen: *Atopobium vaginae*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, HSV 1, HSV 2, *Mycoplasma (M.) genitalium*, *M. hominis*, *M. pneumoniae*, *M. spermatophilum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* und *Ureaplasma parvum*. Zusätzlich quantifiziert diese Methode Laktobazillen.

Mit dieser Methode können die Erreger klassischer STIs (Sexually Transmitted Infections) wie Chlamydien, Gonokokken, *Treponema pallidum*, Herpesviren, Trichomonaden und Mykoplasmen nachgewiesen werden. Anhand der Bakterielle Vaginosen verursachenden Bakterien und deren Verhältnis zueinander konnte auch Rückschluss auf ein Ungleichgewicht der vaginalen Flora gezogen werden. Hierfür wurde ein Bacterial Vaginosis-Score (BV-Score) ermittelt. Bei erniedrigten Laktobazillen wurde auf relativ erhöhte *G. vaginalis*, *A. vaginae* und *M. hominis* geachtet, wobei für *Gardnerella* und *Atopobium* jeweils zwei Punkte und für *Mycoplasma hominis* ein Punkt vergeben wurde. Aus diesen Angaben wurde der BV-Score errechnet (Tab. 2). Ein BV-Score von eins (nur *M. hominis* erhöht) gibt zwar ein Ungleichgewicht der Flora an, ist aber nur ein schwacher Hinweis auf eine Bakterielle Vaginose, während Werte ab 2 eine solche wahrscheinlicher machen. Ein BV-Score von fünf spricht für das Vorhandensein einer Bakteriellen Vaginose. Diese Einteilung basiert auf dem Nugent-Score für Bakterielle Vaginosen [91].

Die Schritte der PCR und Hybridisierung stimmen mit denen der MPG überein und werden in diesem Abschnitt nicht wiederholt. Es wurde lediglich ein anderer PCR-Mastermix und Hybridisierungs-Mix für die Analyse verwendet. Die Ergebnisse wurden in MFI-Werten angegeben und ein Netto-MFI durch Abzug des 1,2-fachen medianen Hintergrunds errechnet. Ein Netto-MFI über zehn wurde als positiv gewertet. Zur Überprüfung des Vorhandenseins menschlicher DNA in den Proben wurde zusätzlich die PolA-Sequenz nachgewiesen (Positivkontrolle). Bei PolA-Positivität, also vorhandener DNA, aber mit negativen Mikroorganismen, liegt der Verdacht nahe, dass die Probandin Antibiotika eingenommen hat. Auch auf PCR-Inhibitoren wurde untersucht. Proben mit Inhibitoren (verbleibende Bestandteile der DNA-Extraktion, Blut, Magnesium-Binder, etc.), sowie Proben die PolA positiv, aber auf alle Bakterien negativ waren, wurden nicht in die STI-Auswertung eingeschlossen.

Tabelle 2: Einteilung des BV-Scores

| BV-Score | Niedrige Laktobazillen | Mycoplasma hominis | Gardnerella vaginalis | Atopobium vaginae | Bedeutung |
|----------|------------------------|--------------------|-----------------------|-------------------|---|
| 0 | - | - | - | - | Kein Hinweis auf Bakterielle Vaginose |
| 1 | + | + | - | - | Schwacher Hinweis auf Bakterielle Vaginose |
| 2 | + | - | +/- | +/- | Leichter Hinweis auf Bakterielle Vaginose |
| 3 | + | + | +/- | +/- | Starker Hinweis auf Bakterielle Vaginose |
| 4 | + | - | + | + | Starker Hinweis auf Bakterielle Vaginose |
| 5 | + | + | + | + | Sehr starker Hinweis auf Bakterielle Vaginose |

Für einen BV-Score von 2 oder 3 müssen entweder *G. vaginalis* oder *A. vaginae* positiv sein.

Für die Quantifizierung von *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida* und Laktobazillen wurden die MFI-Werte mit MFI-Werten bekannter Konzentrationen verglichen. Für Laktobazillen und *Candida* wurden zusätzlich Universalsonden verwendet, die verschiedene Laktobazillen- bzw. *Candida*spezies detektiert.

3.2.8 Ausschluss von 240 Proben bei sehr niedrigen MFI-Werten der Positivkontrollen

Nach der Analyse aller Proben wurde die Verteilung der Beta globinmittelwerte (Positivkontrollen) an den einzelnen Studienorten im Vergleich betrachtet. In zwei Regionen fielen sehr niedrige MFI-Werte auf, was einen PCR-Inhibitor vermuten lässt, der die Auswertbarkeit der Proben beeinträchtigt. Die Proben an diesen zwei Orten wurden in anderen Röhrchen gesammelt als alle anderen Proben. Eine Interaktion des Röhrchenmaterials mit dem verwendeten Methanolpuffer konnte von Seiten der Hersteller nicht ausgeschlossen werden. Diese 240 Proben wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen.

3.2.9 Serologie mittels Dried Blood Spot Cards

Um die Frauen auf Seronarben vorhandener oder vergangener HPV-Infektionen zu untersuchen, wurde EDTA-Blut entnommen und auf Dried Blood Spot Cards (903 Protein Saver Cards, Whatman) konserviert. Die Dried Blood Spot Methode schien eine gute Alternative zu frischem

Blut zu sein, da die Analyse in Deutschland durchgeführt werden sollte und die Aufbewahrung über mehrere Monate und ohne Kühlkette so möglich war. Die Multiplex Serologie aus getrockneten Blutproben lässt eine zuverlässige Bestimmung von über 100 viralen und bakteriellen Antigenen gleichzeitig zu und eignet sich für ressourcenärmere Länder, in denen weder schneller Transport noch eine ausreichende Kühlkette gesichert sind [82, 83]. In dieser Studie wurden HPV-Antikörper gegen zehn HPV-Typen bestimmt.

Das Blut wurde in 4 oder 5ml EDTA-Röhrchen abgenommen. Die Kosten für weitere Blutuntersuchungen im Labor der Krankenhäuser wurden für die Frau, falls sie nötig waren, aus Projektgeldern bezahlt.

Innerhalb von zehn Stunden nach Abnahme, wurde das EDTA-Blut auf Protein Saver 903 Cards (Whatman) pipettiert (Abb. 5). Hierzu wurden jeweils 70µl Blut auf einen Kreis aufgetragen und über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Nach dem Falten wurden jeweils drei Karten in Druckverschlusstüten mit Silicagel-Beuteln (zur Trockenlagerung) verpackt. So konnten die Proben über Monate bei Raumtemperatur gelagert werden. Die Gruppierungen wurden notiert, um eventuelle Kreuzkontaminationen von Karte zu Karte zurückverfolgen zu können. Im DKFZ Heidelberg wurden die Karten bis zur Analyse bei +4°C gelagert.



Abbildung 5: Protein Saver 903 Card (Whatman) [93]

Für die weitere Auswertung wurden aus jeder Karte zwei Kreise mit einem Durchmesser von 6mm mit Hilfe des Wallac DBS (Dried Blood Spot) Puncher (Perkin Elmer) ausgestanzt. Diese konnten dann in 180µl PBS resuspendiert und mittels der von T. Waterboer et al. 2005 und 2012 beschriebenen Multiplex Serologie am DKFZ analysiert werden [82, 83].

Zu den analysierten HPV-Antikörpern zählen neben den Kondylom-verursachenden HPV 6 und 11 auch acht Hochrisiko-HPV-Typen: HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58. Zu jedem Typ wurden Antikörper gegen die L1-Region bestimmt. E6- und E7-Proteine kommen vor allem bei HPV-Infektionen mit höherem kanzerogenen Potential vor, so dass die Proben auch auf E6- und E7-Antikörper für HPV 16 untersucht wurden.

3.2.10 Statistik

Die statistische Auswertung dieser Arbeit erfolgte mit dem Programm SPSS (Statistical Package for Social Science) 22. Damit konnten die deskriptive Statistik, die multivariate Analyse sowie Signifikanzberechnungen durchgeführt werden. Diagramme wurden mittels GraphPad Prism 6.0 erstellt.

Es wurde eine nicht-normalverteilte Population angenommen und keine Altersstandardisierung durchgeführt.

Konfidenzintervalle

Für diese Arbeit wurden 95%-Konfidenzintervalle (95%-KI) bestimmt.

$$68\text{-Konfidenzintervall: } \sigma(p_1) = \sqrt{\frac{\pi_1 \cdot (1 - \pi_1)}{n}}$$

$$95\text{-Konfidenzintervall: } \pm 1,96 \cdot \sigma$$

Konfidenzintervalle für Fallzahlen unter fünf wurden mittels Wilson-Formel berechnet.

Signifikanzniveau

Für die statistische Auswertung wurde ein Signifikanzniveau von $p = 0,05$ gewählt. Unter diesem Niveau liegende p-Werte wurden als statistisch signifikant gewertet.

Multivariate Analyse

Um zu überprüfen, ob eine Korrelation zwischen einem Risikofaktor und der HPV-Positivität besteht, wurde eine binäre logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Hier wurden Faktoren wie das Alter als epidemiologisch wichtiger Faktor integriert sowie andere Faktoren, bei denen anhand der Literatur ein Zusammenhang mit HPV vermutet wurde. Mithilfe der multivariaten Analyse konnte nach den eingeschlossenen Faktoren adjustiert und die Korrelation zwischen Risikofaktor und der HPV-Positivität dargestellt werden. Diese Methode berücksichtigt ausschließlich die in die Analyse eingeschlossenen Einflussfaktoren. Andere Einflussfaktoren werden nicht berücksichtigt.

Außerdem können schwache Korrelationen zwischen Faktoren übersehen werden, wenn eine Variable mit sehr starker Korrelation in die Analyse eingeschlossen wird. In diesem Fall kann es Sinn machen, nach diesem Faktor zu stratifizieren. Hierbei muss man jedoch beachten, dass die stratifizierte Gruppe eine kleinere Fallzahl hat, was die Power beeinflusst. Die Korrelation wird in Odds Ratio (OR) angegeben und mit einem 95%-KI versehen. Liegt die eins außerhalb des KI, kann eine Korrelation als statistisch signifikant angesehen werden. $OR > 1$ beschreiben Faktoren, welche mit einem häufigeren Auftreten des untersuchten Endpunktes (z.B. HPV-

Positivität) korrelierten, während $OR < 1$ einen protektiven Faktor beschreiben. Zusätzlich wurden p-Werte berechnet, die mit einem Signifikanzniveau von $p = 0,05$ versehen wurden. Eine positive Korrelation trifft keine Aussage zur Kausalität, so dass mit dieser Analyse ein Zusammenhang, jedoch keine Ursächlichkeit angenommen werden kann.

3.2.11 Einsatzbereich der Doktorandin

Die Doktorandin war an der Datenerhebung in Äthiopien beteiligt. Sie leitete vor Ort das Projekt zur HPV-Testung, erstellte die modifizierte Version des IARC-Fragebogens und organisierte dessen Übersetzung und betreute Testläufe in Addis Abeba. In sechs Monaten sammelte sie Proben an vier Orten im Land ($n=483$). Weitere Proben wurden von Ann-Kathrin Pannen ($n=439$) und Johanna Komp ($n=119$) gesammelt.

Bei der Auswertung der Daten im Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) arbeitete sie über drei Monate aktiv an der Multiplex Papillomvirus Genotypisierung und dem STI Profiling mit.

Die statistische Auswertung in dieser Arbeit wurde selbstständig von der Doktorandin durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Beteiligung

Zwischen April und Juli 2013 und April und September 2014 wurden 1239 Frauen in der Schwangerenvorsorge und Verhütungssprechstunde über die Studie aufgeklärt. Von diesen Frauen waren 1041 zur Teilnahme bereit und wurden, wie in 3.2.6 beschrieben, untersucht. Gründe für eine Ablehnung waren die Angst vor der vaginalen Probe und bei Musliminnen das Reinheitsgebot während des Ramadan. Frauen mit höherem Bildungsniveau lehnten ebenfalls häufiger ab.

4.2 Probenzahl

Gründe für den labortechnischen Ausschluss waren Pipettierfehler oder ausgelaufene Proben. 240 vaginale Proben aus Aira und Soddo konnten der Qualitätskontrolle nicht genügen (zu niedrige MFI Werte) wahrscheinlich infolge von Problemen mit den Transportgefäßen, aus denen sich ein PCR-Inhibitor gelöst hatte. Diese Proben wurden nicht in die Studie eingeschlossen (siehe 3.2.8).

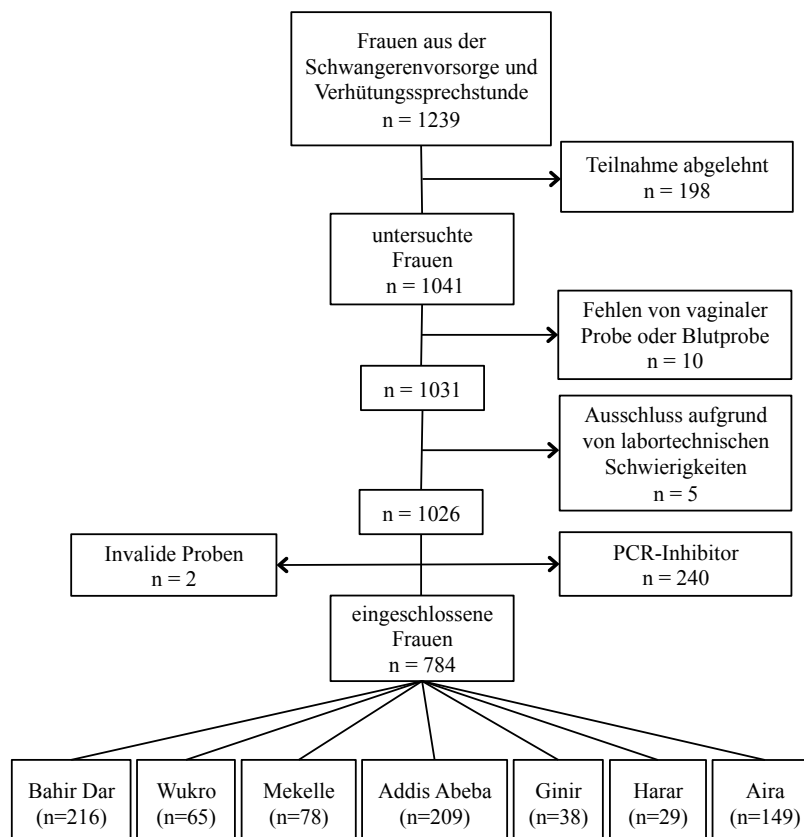


Abbildung 6: Studienpopulation

Die endgültige Studienpopulation umfasst 784 Frauen mit ausgefülltem Fragebogen und validen vaginalen- und Blutproben (Abbildung 6).

4.3 Epidemiologisches Profil des Studienkollektivs

Die insgesamt 784 Proben wurden an sieben Orten in verschiedenen Regionen Äthiopiens abgenommen (siehe 3.2.2). Angesichts der Tatsache, dass Addis Abeba die Hauptstadt von Äthiopien ist und zudem als Schmelztiegel der Kulturen gilt, wurden viele Frauen (n=209) dort untersucht. Die anderen Studienorte umfassten 216 Probandinnen im Nordwesten (Bahir Dar), 149 im Westen (Aira), 143 im Norden (Mekelle und Wukro) und 67 im Osten des Landes (Ginir und Harar). Aus logistischen Gründen konnten im Osten nicht mehr Proben gesammelt werden. Die untersuchten Frauen waren zwischen 18 und 45 Jahre alt und kamen zur Schwangerenvorsorge (n=750) und Verhütungssprechstunde (n=34).

Um einen Überblick über die Herkunft der Frauen zu bekommen, wurden sie gefragt, wie viele Jahre ihres Lebens sie im städtischen bzw. ländlichen Milieu gelebt hatten. Von den Befragten hatten 287 (36,7%) schon immer in der Stadt und 153 (19,6%) schon immer auf dem Land gewohnt. Aufgrund ihrer Heirat waren viele in den letzten Jahren umgezogen und so gaben 343 (43,8%) der Frauen an, vom Land in die Stadt oder aus der Stadt aufs Land gezogen zu sein, wobei die letzte Variante nur in 4 Fällen vorkam. Eine Frau gab zu dieser Frage keine Antwort. Weitere demographische und reproduktive Faktoren und deren Verteilung in den unterschiedlichen Regionen Äthiopiens sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Von 106 Befragten hatte der Ehemann bis zu drei weitere Ehefrauen. Viele der Probandinnen gaben an, Hausfrau zu sein (60%), wobei auf dem Land viele dieser Frauen gleichzeitig auf dem Feld arbeiten. Weitere häufigere Berufe waren Einzelhändlerin (13,1%) und staatliche Angestellte (15,1%). 2,8% der Frauen waren arbeitslos und 3,2% Schülerinnen und Studentinnen. Nur 5,8% gingen anderen Berufen nach.

Die Schwangerenvorsorge wurde von 47,3% Erst- und 52,7% Mehrgebärenden besucht. Im Durchschnitt hatte die zweite Gruppe bereits 1,9 Kinder geboren. Von den schon vorhandenen Kindern aller untersuchten Frauen waren 281 zu Hause, 16 in einer kleineren und 140 in einer größeren Gesundheitsstation (Clinic bzw. Health Center) und 346 in einem Krankenhaus entbunden worden. Von den 750 schwangeren Frauen lagen bei 731 Informationen zum Schwangerschaftsalter vor. Es befanden sich 10,5% im ersten, 35,4% im zweiten und 54% im dritten Trimenon.

Auch in Äthiopien werden, wie in vielen afrikanischen Ländern, junge Frauen häufig beschnitten. Über die Hälfte der Teilnehmerinnen waren diesem Ritual unterzogen worden,

meistens Grad I oder II WHO. In verschiedenen Regionen variiert das Alter bei Beschneidung von der Geburt bis in die Pubertät.

Tabelle 3: Zusammenfassung demographischer und reproduktiver Faktoren in den einzelnen Regionen und der Gesamtpopulation

| | Addis Abeba n (%) ¹ | Norden n (%) ¹ | Nordwesten n (%) ¹ | Westen n (%) ¹ | Osten n (%) ¹ | Gesamt n (%) ¹ |
|--|-----------------------------------|------------------------------|----------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| n | 209 | 143 | 216 | 149 | 67 | 784 |
| Alter \bar{x} (Min-Max) | 25,6 (18-40) | 26,4 (18-45) | 27 (18-40) | 24,3 (18-37) | 26 (18-40) | 25,9 (18-45) |
| Ethnie | | | | | | |
| Amhara | 39 (18,7) | 4 (2,8) | 207 (95,8) | 6 (4,0) | 22 (33,3) | 278 (35,5) |
| Oromo | 34 (16,3) | 1 (0,7) | 0 | 141 (94,6) | 37 (56,1) | 213 (27,2) |
| Tigre | 7 (3,3) | 135 (94,4) | 1 (0,5) | 0 | 1 (1,5) | 144 (18,4) |
| Gurage | 96 (45,9) | 0 | 0 | 2 (1,3) | 2 (3,0) | 100 (12,8) |
| Andere/Unbekannt | 33 (15,8) | 3 (2,1) | 8 (3,7) | 0 | 4 (6,1) | 48 (6,1) |
| Religion | | | | | | |
| Orthodox | 107 (51,2) | 138 (96,5) | 195 (90,3) | 18 (12,1) | 34 (50,7) | 492 (62,8) |
| Protestantisch | 36 (17,2) | 2 (1,4) | 3 (1,4) | 127 (85,2) | 1 (1,5) | 169 (21,6) |
| Muslimisch | 64 (30,6) | 3 (2,1) | 18 (8,3) | 4 (2,7) | 31 (46,3) | 120 (15,3) |
| Andere | 2 (1,0) | 0 | 0 | 0 | 1 (1,5) | 3 (0,4) |
| Wohnort | | | | | | |
| Jemals Stadt | 204 (97,6) | 115 (81,0) | 205 (95,3) | 47 (31,5) | 58 (86,6) | 629 (80,4) |
| Nur Land | 5 (2,4) | 27 (19,0) | 10 (4,7) | 102 (68,5) | 9 (13,4) | 153 (19,6) |
| Schulbildung | | | | | | |
| Analphabeten ² | 42 (20,1) | 50 (35,0) | 37 (17,1) | 60 (40,3) | 17 (25,8) | 206 (26,3) |
| Schulbildung | 167 (79,9) | 93 (65,0) | 179 (82,9) | 89 (59,7) | 49 (74,2) | 577 (73,7) |
| Schule \geq 9 Jahre | 68 (32,5) | 67 (46,9) | 143 (66,2) | 50 (33,6) | 24 (36,4) | 352 (45,0) |
| Familienstand | | | | | | |
| Ledig | 3 (1,4) | 11 (7,7) | 4 (1,9) | 0 | 4 (6,0) | 22 (2,8) |
| Verheiratet | 205 (98,1) | 123 (86,0) | 210 (97,2) | 149 (100,0) | 57 (85,1) | 744 (94,9) |
| Geschieden/Verwitwet | 1 (0,5) | 9 (6,3) | 2 (0,9) | 0 | 6 (9,0) | 18 (2,3) |
| Menarche \bar{x} (Min-Max) | 14,3 (7-20) | 15,5 (12-19) | 15,6 (10-20) | 13,7 (12-17) | 14,5 (11-18) | 14,7 (7-20) |
| Alter bei erstem GV \bar{x} (Min-Max) | 19,6 (5-33) | 17,9 (9-28) | 19,5 (9-27) | 19,3 (12-27) | 18,2 (14-27) | 19,1 (5-33) |
| Parität | | | | | | |
| Nullipara | 113 (54,1) | 65 (45,5) | 117 (54,2) | 58 (38,9) | 18 (26,9) | 371 (47,3) |
| Primipara | 54 (25,8) | 34 (23,8) | 55 (25,5) | 49 (32,9) | 22 (32,8) | 214 (27,3) |
| Multipara | 42 (20,1) | 44 (30,8) | 44 (20,4) | 42 (28,2) | 27 (40,3) | 199 (25,4) |
| Abort | | | | | | |
| Spontanabort | 27 (12,9) | 32 (22,4) | 43 (19,9) | 19 (12,8) | 25 (37,3) | 146 (18,6) |
| Induzierter Abort | 26 (12,4) | 7 (4,9) | 19 (8,8) | 1 (0,7) | 9 (13,4) | 62 (7,9) |
| Kontrazeptiva | | | | | | |
| Hormon-Kontrazeptiva ³ | 135 (64,6) | 94 (65,7) | 187 (86,6) | 118 (79,2) | 50 (74,6) | 586 (74,7) |
| Hormon-Kontrazeptiva ³ | 126 (60,3) | 89 (62,2) | 178 (82,4) | 116 (77,9) | 45 (67,2) | 554 (70,7) |
| Beschnitten | | | | | | |
| Alter bei Besch. \bar{x} (Min-Max) | 156 (75,0) 5,1 (0-15) | 16 (11,2) 1,3 (0-10) | 85 (40,5) 1,4 (0-17) | 134 (90,5) 13,9 (1-20) | 47 (70,1) 7,7 (0-15) | 438 (56,4) 7,4 (0-20) |

¹ Prozentangaben sind spaltenweise im Bezug auf die Region zu betrachten

² Hierzu werden Analphabetinnen und Frauen ohne formelle Schulbildung gerechnet

³ Zu den Hormonkontrazeptiva werden die Pille, 3-Monatsspritze und Hormonstäbchen gerechnet

Außer Addis Abeba als Hauptstadt, wurden die Orte in Regionen zusammengefasst: Norden (Mekelle und Wukro), Nordwesten (Bahir Dar), Westen (Aira) und Osten (Harar und Ginir).

4.4 Nachweis von β -Globin in Proben unterschiedlichen Volumens

Um zu überprüfen, wie viel DNA in Gefäßen mit sehr wenig zurückgewonnener Flüssigkeit (3,1-3,5ml; n=20) im Vergleich zu Proben mit der meisten Flüssigkeit (6,0ml; n=20) vorhanden war, wurde eine qPCR (Real Time Quantitative PCR) für β -Globin aus den bereits extrahierten Proben durchgeführt. Das Ergebnis wurde in Zellen pro μ l angegeben. Proben mit größerem Volumen zeigten wesentlich mehr Zellen (46345/ μ l) als Proben mit geringem Volumen (6321/ μ l). Alle Proben waren jedoch über der Cut-off-Grenze und somit valide.

4.5 Humane Papillomviren DNA in vaginalen Proben

784 der 786 analysierten Proben wiesen ausreichende β -Globin-Werte als interne Qualitätskontrolle bei der MPG auf, waren somit valide und wurden in das Studienkollektiv eingeschlossen. Die einfache Auswertung aller HPV-Infektionen ergab eine Gesamtprävalenz von 33,2% HPV positiver Frauen (95%-KI: 29,9-36,5). Infektionen mit nur einem Typ kamen in 17,5% vor, während 15,7% der Probandinnen mehrere HPV-Typen aufwiesen (95%-KI: 14,8-20,1 und 13,1-18,2). Die einfachen und Mischinfektionen werden auch als single und multiple Infektionen bezeichnet. Mit Hochrisiko-HPV-Typen (hrHPV) waren 22,1%, mit möglichen Hochrisiko-Typen (phrHPV) 7,8% und mit Niedrigrisiko-Typen (lrHPV) 18,5% der Frauen infiziert. Ein Hochrisiko-Typ mit gleichzeitig hoher Viruslast wurde in 13,8% der Probandinnen festgestellt. Eine Zusammenfassung der HPV-Gesamtprävalenz und HPV-Prävalenzen in den einzelnen Regionen geben Tabellen 4 und 5.

Die Proben wurden an sehr unterschiedlichen Orten abgenommen und zeigten variierende HPV-Prävalenzen. Die höchste Prävalenz fand sich mit 40,3% im Osten des Landes, während der Westen, wo ein sehr ländliches und traditionelles Leben geführt wird, nur 18,1% der Frauen HPV positiv waren. Vor allem im Norden Äthiopiens waren Mischinfektionen wesentlich häufiger als einfache (23,1 vs. 14%), während sonst die einfachen Infektionen gleich häufig waren oder den größeren Anteil ausmachten. Der Anteil der hrHPV Infektionen an den Gesamtinfektionen lag zwischen 62,7% (Addis Abeba) und maximal 72,1% im Nordwesten des Landes. Nur im ländlichen Westen waren weniger als die Hälfte der HPV infizierten Frauen hrHPV positiv (48,1%).

Die HPV-Prävalenzen im ersten und zweiten Trimenon lagen mit 35,1% (95%-KI: 24,4-45,7) und 36,7% (95%-KI: 30,8-42,5) etwas über der im dritten Trimenon, wo es nur 29,6% (95%-KI: 25,1-34,1) waren.

Tabellen 4 und 5: HPV-Gesamtprävalenz und Prävalenzen unterteilt nach Regionen

| | Addis Abeba (n=209) | | Norden (n=143) | | Nordwesten (n=216) | |
|------------------------|---------------------|------------------|----------------|------------------|--------------------|------------------|
| | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) |
| HPV positiv | 67 | 32,1 (25,7-38,4) | 53 | 37,1 (29,1-45,0) | 86 | 39,8 (33,3-46,3) |
| Multiple | 28 | 13,4 (8,8-18,0) | 33 | 23,1 (16,2-30,0) | 38 | 17,6 (12,5-22,7) |
| Single | 39 | 18,7 (13,4-23,9) | 20 | 14,0 (8,3-19,7) | 48 | 22,2 (16,7-27,8) |
| hrHPV | 42 | 20,1 (14,7-25,5) | 38 | 26,6 (19,3-33,8) | 62 | 28,7 (22,7-34,7) |
| hr/phrHPV ¹ | 49 | 23,4 (17,7-29,2) | 44 | 30,8 (23,2-38,3) | 70 | 32,4 (26,2-38,6) |
| lrHPV | 39 | 18,7 (13,4-23,9) | 33 | 23,1 (16,2-30,0) | 40 | 18,5 (13,3-23,7) |

| | Westen (n=149) | | Osten (n=67) | | Gesamt (n=784) | |
|------------------------|----------------|------------------|--------------|------------------|----------------|------------------|
| | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) |
| HPV positiv | 27 | 18,1 (11,9-24,3) | 27 | 40,3 (28,6-52,0) | 260 | 33,2 (29,9-36,5) |
| Multiple | 10 | 6,7 (2,7-10,7) | 14 | 20,9 (11,2-30,6) | 123 | 15,7 (13,1-18,2) |
| Single | 17 | 11,4 (6,3-16,5) | 13 | 19,4 (9,9-28,9) | 137 | 17,5 (14,8-20,1) |
| hrHPV | 13 | 8,7 (4,2-13,3) | 18 | 26,9 (16,3-37,5) | 173 | 22,1 (19,2-25,0) |
| hr/phrHPV ¹ | 14 | 9,4 (4,7-14,1) | 22 | 32,8 (21,6-44,1) | 199 | 25,4 (22,3-28,4) |
| lrHPV | 16 | 10,7 (5,8-15,7) | 17 | 25,4 (15,0-35,8) | 145 | 18,5 (15,8-21,2) |

¹ hr/phrHPV schließt Infektionen mit hrHPV und/oder phrHPV ein

Die HPV Positiven erfassen alle HPV-Typen zusammen. Multiple und Single Infektionen beziehen sich auf Infektionen mit mehreren bzw. nur einem HPV-Typ. Häufigkeiten der high-risk (hr), probable high-risk (phr) und low-risk (lr) Typen finden sich darunter.

4.5.1 Verteilung der HPV-Typen

Mittels Multiplex Papillomvirus Genotypisierung konnten die Proben auf alle 51 bekannten mukosalen HPV-Typen untersucht werden. Zusätzlich wurden ein kutaner Typ (HPV 57), der bei keiner der Frauen nachgewiesen werden konnte, und zwei Subtypen bereits untersuchter HPV-Typen analysiert. Diese gehören jedoch zur Gruppe der lrHPV und werden zu ihrem jeweiligen Typ gerechnet und nicht gesondert aufgezählt. Alle bekannten hrHPV und phrHPV wurden bei mindestens einer Probandin gefunden, während bei den lrHPV einige nicht vorkamen (HPV 7, 13, 34, 71, 72, 85, 97, 102, 106). Die Verteilung der Hochrisiko- und Niedrigrisiko-HPV-Typen und ihre Häufigkeit sind den Abbildungen 7, 8 und 9 zu entnehmen (Absolute Werte siehe Anhang). Um die einzelnen Hochrisikoinfektionen besser beurteilen zu können, wurde jeder HPV-Typ daraufhin untersucht, wie häufig er als einfache Infektion oder in Kombination mit anderen Typen auftritt. Außerdem sollte hinsichtlich des Schweregrades der Infektion auch die Viruslast dargestellt werden.

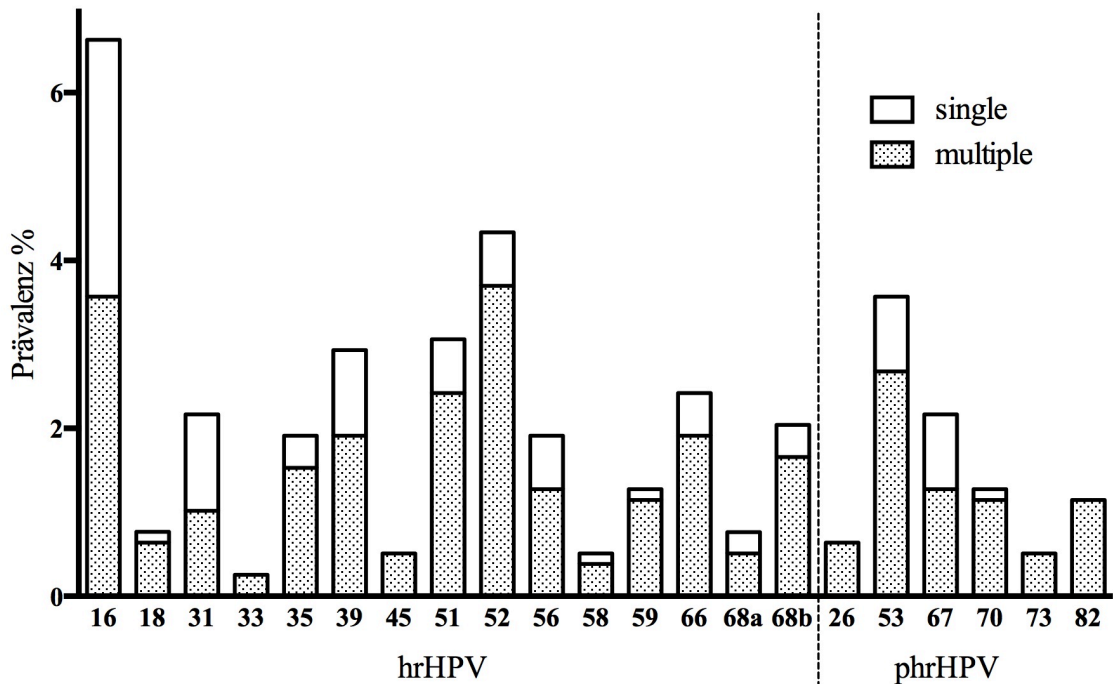


Abbildung 7: Prävalenz einzelner high-risk (hr) und probable high-risk (phr) HPV-Infektionen unterteilt nach einfachen (single) und Mischinfektionen (multiple)

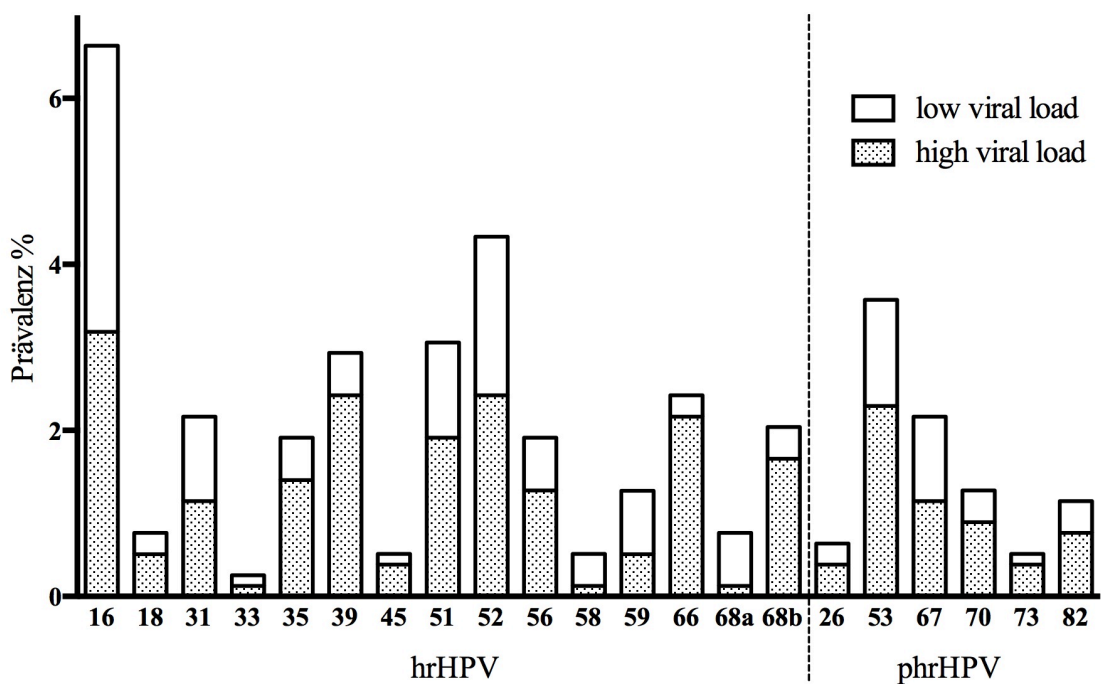


Abbildung 8: Prävalenz einzelner high-risk (hr) und probable high-risk (phr) HPV-Infektionen unterteilt nach hoher (high) und niedriger Viruslast (low viral load)

Am häufigsten wurden die HPV-Typen 16 und 52 gefunden. HPV 16 ist mit 24 einfachen Infektionen auch der häufigste einfache Typ, der zudem in fast der Hälfte der Fälle mit hoher Viruslast auftrat. HPV 52 kam zwar nur in fünf Fällen als einfache Infektion, dafür aber in über der Hälfte mit hoher Viruslast vor. Andere Typen kamen insgesamt nicht ganz so häufig und

dann meist als Mischinfektion vor (HPV 35, 39, 51, 56, 66, 68b), wiesen aber wesentlich höhere Anteile an Infektionen mit hoher Viruslast auf.

Von den insgesamt 173 Frauen mit einer hrHPV-Infektion (single und multiple), war der HPV-Typ mit der höchsten Viruslast in 133 Fällen auch wirklich ein Hochrisiko-Typ. Häufige Hochrisiko-Typen mit höchster Viruslast in einer Frau waren: HPV 16 (n=34), HPV 31 (n=13), HPV 39 (n=17) und HPV 66 (n=15).

Die vier häufigsten Typen unter den Niedrigrisiko-HPV-Infektionen sind in dieser Studie: HPV 6, 42, 62 und 81. Mit einem Kondylom-verursachenden Typ (HPV 6/11) waren 20 Frauen (2,6%) infiziert, von denen auch einige in der klinischen Untersuchung sichtbare Kondylome aufwiesen. Die Prävalenzen der einzelnen lrHPV-Typen und ihr Vorkommen als einfache oder Mischinfektion sind der Abbildung 9 zu entnehmen.

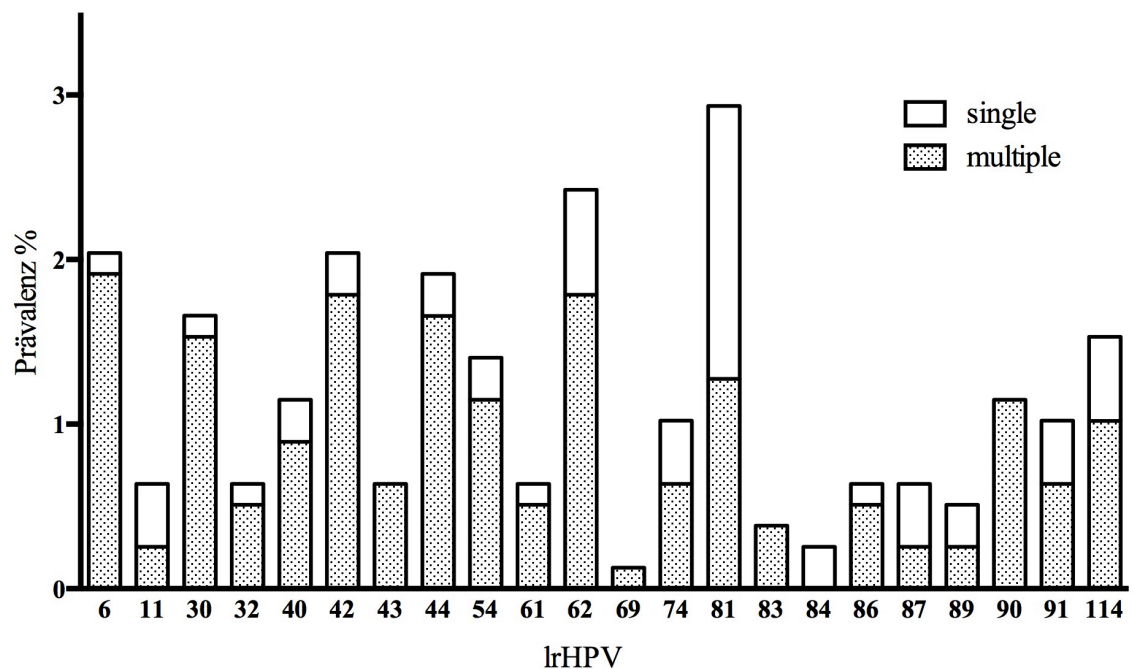


Abbildung 9: Prävalenzen einzelner low-risk (lr) HPV-Infektionen eingeteilt nach einfachen (single) und Mischinfektionen (multiple)

4.5.2 Einfache und Mischinfektionen, Hochrisiko-HPV und hohe Viruslast

Die Zahl der einfachen und Mischinfektionen ist abhängig von der Anzahl kursierender HPV-Typen und deren Häufigkeit, sowie einer Reihe anderer Faktoren. In Gebieten mit hoher HPV-Positivität fanden sich oft höhere Raten von Mischinfektionen.

Es fanden sich unter den Mischinfektionen 62 Frauen mit zwei, 19 mit drei, 23 mit vier, zwölf mit fünf und weitere sieben Frauen mit sechs oder mehr HPV-Typen. Eine Frau hatte zum

Untersuchungszeitpunkt elf verschiedene HPV-Infektionen. Da die hrHPV- und phrHPV-Infektionen mit hoher Viruslast die eigentlich gefährlichen Infektionen für die Karzinomentstehung darstellen, wurde das Augenmerk auch auf die Quantifizierung dieser Infektionen gerichtet. Insgesamt hatten 108 (13,8%) einen hrHPV-Typ mit hoher Viruslast (Tab. 6). 85 Frauen hatten einen, 28 hatten zwei, elf hatten drei und sechs hatten vier hr- oder phrHPV-Typen mit hoher Viruslast.

4.5.3 HPV-Prävalenz nach Stadt und Land

Um zu beurteilen, ob sich die HPV-Infektionen in der Stadt und auf dem Land unterscheiden, wurden Daten hierzu gesammelt und alle Frauen den Kategorien jemals Stadt bzw. nur Land zugeordnet. Da die meisten Infektionen, die in dieser Studie detektiert werden konnten, wahrscheinlich in den letzten Jahren aufgetreten sind, wurde der Einfluss Stadt auf alle Frauen angewendet, die jemals in einer Stadt gelebt hatten. Von den 630 Frauen, die in der Stadt und auf dem Land gelebt hatten, waren alle, mit Ausnahme von vier, vom Land in eine Stadt gezogen. Somit wurde bei diesen Frauen der städtische Einfluss in den letzten Monaten und Jahren als gegeben gewertet. Nur die Frauen, die nie in einer Stadt gelebt hatten, wurden in die nur Land-Kontrollgruppe (n=153) eingeschlossen. Diese beiden Gruppen werden im Folgenden vereinfacht auch als Stadt und Land bezeichnet. Bei einer Frau fehlten Angaben zur Herkunft.

Das mittlere Alter der Frauen in beiden Gruppen unterschied sich kaum: 26,1 Jahre in der Stadt zu 25,2 auf dem Land. Auch waren in der Stadt und auf dem Land die meisten Frauen verheiratet (94,6 und 96,1%). Größere Unterschiede gab es nur im Bereich Bildung. In der Stadt hatten 79,5% der Frauen die Schule besucht, während es auf dem Land nur 49,7% waren. Das Alter bei erstem Geschlechtsverkehr war im Mittel 19,2 bzw. 18,7, mindestens ein Kind hatten 50,2 bzw. 62,7% der Befragten, Kontrazeptiva nahmen 75,6 bzw. 69,9% und der Beschneidung waren 52,4 bzw. 70,6% der Frauen unterzogen worden.

Beim Betrachten der HPV-Prävalenzen sieht man große Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Während auf dem Land nur 17,6% (95%-KI: 11,6-23,7) HPV positiv waren, konnte bei Frauen, die je in der Stadt gelebt hatten, zu 36,9% (95%-KI: 33,1-40,7) mindestens ein HPV-Typ nachgewiesen werden. Tabelle 6 zeigt die jeweiligen Prävalenzen in der Stadt und auf dem Land. Hochrisiko-Typen fanden sich bei 24,9 und 9,8%.

In der Stadt waren HPV 16, 52 und 53 die häufigsten HPV-Typen, während auf dem Land ebenfalls HPV 16, 52, aber auch HPV 62 und 81, häufig vorkamen. Es wurde zudem ein Blick auf die prozentualen Anteile der Infektionen an den Gesamtpositiven geworfen. Während in der Stadt der hrHPV-Anteil bei HPV positiven Frauen 67,7% ist, sind es auf dem Land nur 55,6%. Von den Frauen mit einer hrHPV-Infektion wiesen auf dem Land 79,6% der Frauen eine hohe Viruslast für einen oder mehrere hrHPV-Typen auf, während es in der Stadt nur 60,6% waren.

Die binäre logistische Regressionsanalyse (siehe 4.5.4) ergab für Stadt als Risikofaktor für eine HPV-Infektion eine Odds Ratio von 2,36 (95%-KI: 1,47-3,79) mit einem p-Wert von <0,001.

Tabelle 6: HPV-Prävalenz unterteilt nach Stadt und Land

| | Stadt (n=630) | | Land (n=153) | | Gesamt (n=784) | |
|------------------------|---------------|-------------------------|--------------|-------------------------|----------------|------------------|
| | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) |
| HPV positiv | 232 | 36,8 (33,1-40,6) | 27 | 17,6 (11,6-23,7) | 260 | 33,2 (29,9-36,5) |
| Multiple | 112 | 17,8 (14,8-20,8) | 11 | 7,2 (3,1-11,3) | 123 | 15,7 (13,1-18,2) |
| Single | 120 | 19,0 (16,0-22,1) | 16 | 10,5 (5,6-15,3) | 137 | 17,5 (14,8-20,1) |
| hrHPV | 157 | 24,9 (21,5-28,3) | 15 | 9,8 (5,1-14,5) | 173 | 22,1 (19,2-25,0) |
| hr/phrHPV ¹ | 181 | 28,7 (25,2-32,3) | 17 | 11,1 (6,1-16,1) | 199 | 25,4 (22,3-28,4) |
| lrHPV | 129 | 20,5 (17,3-23,6) | 16 | 10,5 (5,6-15,3) | 145 | 18,5 (15,8-21,2) |
| hrHPV hvl | 95 | 15,1 (12,3-17,9) | 12 | 7,8 (3,6-12,1) | 108 | 13,8 (11,4-16,2) |
| lrHPV hvl | 115 | 18,3 (15,2-21,3) | 14 | 9,2 (4,6-13,7) | 130 | 16,6 (14,0-19,2) |

¹ hr/phrHPV schließt Infektionen mit hrHPV und/oder phrHPV ein

Die Begriffe Stadt und Land beziehen sich auf jemals Stadt und nur Land als Herkunft. Bei einer Frau fehlen Angaben zur Herkunft. Die HPV Positiven fassen alle HPV-Typen zusammen. Multiple und Single Infektionen beziehen sich auf Infektionen mit mehreren bzw. nur einem HPV-Typ. Häufigkeiten der high-risk (hr), probable high-risk (phr) und low-risk (lr) Typen finden sich darunter, gefolgt von den HPV-Infektionen mit hoher Viruslast (hvl). Wesentliche Unterschiede sind fettmarkiert.

Zusammenfassend bedeutet dies, dass es auf dem Land deutlich weniger HPV-Infektionen gab. Auch die Häufigkeit an Hochrisiko-Typen in dieser Gruppe war niedriger, jedoch zeigte sich ein höherer Anteil an Infektionen mit hoher Viruslast unter den hrHPV positiven Frauen auf dem Land.

4.5.4 Risikofaktoren in der multivariaten Analyse

Die Studienpopulation wurde hinsichtlich der in 1.1 genannten Risikofaktoren einer HPV-Infektion und dessen Persistenz und auf einige weitere Faktoren untersucht. Um die Korrelation der Faktoren und HPV-Prävalenz zu untersuchen wurde eine binäre logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Als Referenzkategorie wurde jeweils die Kategorie mit der laut Literatur vermutlich geringsten HPV-Prävalenz gewählt. Das multivariate Verfahren bezieht alle in die Analyse eingeschlossenen Faktoren als mögliche Einflussfaktoren bei der Berechnung der Odds Ratio (OR) mit ein. Mittels der errechneten OR, dessen 95%-Konfidenzintervall (95%-KI) und p-Wert, konnte die Korrelation einzelner Risikofaktoren mit der HPV-Prävalenz eingeschätzt werden. Da der städtische Einfluss sehr dominant erschien, wurde zusätzlich nach Stadt (jemals Stadt) und Land (nur Land) stratifiziert, was jedoch wegen der kleinen Fallzahl der Gruppe Land nur für die Stadt aufgeführt wird.

Tabelle 7: Multivariate Risikofaktorenanalyse für HPV-Positivität der gesamten Studienpopulation und stratifiziert nach Stadt und Land

| | HPV positive Frauen | | | | HPV positive Frauen in der Stadt | | | |
|-----------------------------------|---------------------|----------------|-------------------------|------------------|----------------------------------|----------------|-------------------------|--------------|
| | n Gesamt | n positive (%) | Odds Ratio | p-Wert | n Gesamt | n positive (%) | Odds Ratio | p-Wert |
| | 752 | 246 | | | 601 | 220 | | |
| Lebensraum | | | | | | | | |
| Nur Land | 151 | 26 (17,2) | 1 (-) | | | | | |
| Jemals Stadt | 601 | 220 (36,6) | 2,36 (1,47-3,79) | <0,001 | | | | |
| Alter | | | | | | | | |
| ≥ 30 | 176 | 60 (34,1) | 1 (-) | | 144 | 56 (38,9) | 1 (-) | |
| 25-29 | 268 | 84 (31,3) | 0,83 (0,52-1,31) | 0,418 | 212 | 76 (35,8) | 0,79 (0,48-1,29) | 0,350 |
| 18-24 | 308 | 102 (33,1) | 0,78 (0,47-1,3) | 0,339 | 245 | 88 (35,9) | 0,69 (0,4-1,18) | 0,172 |
| Bildung | | | | | | | | |
| Keine Schulbildung | 194 | 52 (26,8) | 1 (-) | | 120 | 43 (35,8) | 1 (-) | |
| 1-8 Jahre | 220 | 72 (32,7) | 1,24 (0,79-1,95) | 0,344 | 181 | 66 (36,5) | 1,21 (0,74-2,0) | 0,451 |
| ≥ 9 Jahre | 338 | 122 (36,1) | 1,26 (0,82-1,95) | 0,292 | 300 | 111 (37,0) | 1,14 (0,71-1,83) | 0,593 |
| Alter bei erstem GV | | | | | | | | |
| ≥ 21 | 201 | 57 (28,4) | 1 (-) | | 160 | 48 (30,0) | 1 (-) | |
| 16-20 | 471 | 158 (33,5) | 1,35 (0,9-2,01) | 0,149 | 376 | 143 (38) | 1,52 (0,98-2,35) | 0,06 |
| ≤ 15 | 80 | 31 (38,8) | 1,86 (1,02-3,41) | 0,043 | 65 | 29 (44,6) | 2,18 (1,14-4,17) | 0,019 |
| Kontrazeptiva | | | | | | | | |
| Keine | 220 | 72 (32,7) | 1 (-) | | 173 | 61 (35,3) | 1 (-) | |
| Hormon-Kontrazeptiva ¹ | 532 | 174 (32,7) | 1,02 (0,72-1,45) | 0,928 | 428 | 159 (37,1) | 1,1 (0,75-1,61) | 0,622 |
| Parität | | | | | | | | |
| Nulli-/Primipara | 561 | 191 (34,0) | 1 (-) | | 460 | 171 (37,2) | 1 (-) | |
| Multipara | 191 | 55 (28,8) | 0,69 (0,42-1,12) | 0,128 | 141 | 49 (34,8) | 0,65 (0,39-1,09) | 0,103 |
| Beschnitten | | | | | | | | |
| Ja | 432 | 123 (28,5) | 1 (-) | | 324 | 108 (33,3) | 1 (-) | |
| Nein | 320 | 123 (38,4) | 1,33 (0,96-1,84) | 0,086 | 277 | 112 (40,4) | 1,27 (0,89-1,8) | 0,190 |
| Polygamie | | | | | | | | |
| Nein | 654 | 205 (31,3) | 1 (-) | | 517 | 180 (34,8) | 1 (-) | |
| Ja | 98 | 41 (41,8) | 1,44 (0,91-2,27) | 0,117 | 84 | 40 (47,6) | 1,62 (1,0-2,63) | 0,05 |

¹ Zu den Hormon-Kontrazeptiva werden die Pille, 3-Monatsspritze und Hormonstäbchen gerechnet

Die multivariate Analyse bezieht alle genannten Faktoren in die Berechnung der Odds Ratio mit ein. Die Odds Ratio (95%-KI) und p-Werte beziehen sich auf die Referenzkategorie (1(-)). Aufgrund fehlender Angaben wurden 32 Fälle von der Analyse ausgeschlossen. Wegen der geringen Anzahl an Frauen, die ausschließlich auf dem Land gelebt haben, ist bei der Stratifizierung nur die städtische Population aufgeführt. Wichtige Ergebnisse sind fettmarkiert.

Zu den in die multivariate Analyse eingeschlossenen Faktoren gehören neben der Herkunft auch das momentane Alter und Alter bei erstem Geschlechtsverkehr, die Einnahme von Hormonkontrazeptiva, die Parität, Beschneidung, Schulbildung und eine mögliche Polygamie des Ehemanns. Da die Frage nach der Anzahl von Geschlechtspartnern in einer sehr religiösen Umgebung wie Äthiopien als zu sensibel angesehen wurde, konnten keine Daten hierzu erhoben werden. Der Zusammenhang zwischen Anzahl der Geschlechtspartner und HPV-Infektionen gilt jedoch als gesichert [27]. Da nur drei Frauen angaben, regelmäßig zu rauchen, ließ sich Rauchen als Risikofaktor nicht untersuchen.

Das Ergebnis der binär logistischen Regressionsanalyse mit Stratifizierung nach Stadt und Land findet sich in Tabelle 7. Aufgrund fehlender Angaben wurden 32 Fälle aus der Regressionsanalyse ausgeschlossen. Die jeweilige OR und der p-Wert beziehen sich auf den Vergleich zur Referenzkategorie, die als erstes genannt und mit einer 1 (-) versehen ist.

Wie bereits in Abschnitt 4.5.3 erwähnt, hatten Frauen in der Stadt ein mehr als doppelt so hohes Risiko einer HPV-Infektion im Vergleich zu Frauen aus einer rein ländlicher Umgebung (OR 2,36 (95%-KI: 1,47-3,79)). Ein weiterer korrelierender Risikofaktor war ein junges Alter bei erstem Geschlechtsverkehr. Bei Frauen, die mit 15 Jahren oder jünger sexuell aktiv wurden, ergab sich ein Odds Ratio von 1,86 (95%-KI: 1,02-3,41) mit einem p-Wert von 0,043, welches sich auch für die Gruppe Stadt bestätigte (OR: 2,18 (95%-KI: 1,14-4,17), p-Wert: 0,019). Ein grenzwertiges Ergebnis lieferte der Faktor Polygamie, der in der Stratifizierung einen Odds Ratio von 1,62 (95%-KI: 1,0-2,63) und einen p-Wert von 0,05 aufwies.

Zwischen allen anderen untersuchten Faktoren und der HPV-Positivität bestand keine signifikante Korrelation.

4.5.5 Detektion von elf HPV-Universalsonden

Universalsonden weisen, unabhängig vom HPV-Typ, auf das Vorhandensein von HPV-DNA hin. Bei elf Proben wurde während der MPG ein Signal der Universalsonden detektiert, ohne dass das Signal einem HPV-Typ zugeordnet werden konnte. Dies kann bei niedrigem Signal ein Artefakt sein, bei stärkeren Signalen jedoch auch für einen unbekanntes HPV-Typen sprechen. Zwei der Proben wurden sequenziert, wobei eine der Proben kein HPV und die zweite einen IrHPV 74-Subtyp aufwies, der nicht erkannt worden war. Die restlichen 9 Proben wurden aufgrund niedriger Signale nicht sequenziert.

4.6 Sexually Transmitted Infections (STI) und die vaginale Flora

4.6.1 Prävalenz untersuchter Erreger

Da laut Literatur sexuell übertragbare Erkrankungen (Sexually Transmitted Infections, STIs), darunter insbesondere Chlamydien und Herpes Simplex Typ 2 Viren (HSV 2), Kofaktoren einer HPV-Infektion sind, wurde die vaginale Lavage auf diese und weitere Erreger (*Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* und HSV 1) untersucht. Gleichzeitig sollte eine Aussage über das vaginale Milieu getroffen werden, weswegen auch auf Laktobazillen, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, bestimmte *Mycoplasma*-Typen und *Candida* untersucht werden sollte.

Proben, mit PCR-Inhibitoren oder solche, die nur PolA positiv waren, aber keine Keime enthielten, wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen, so dass 779 der 784 Proben zur Verfügung standen. Genauso wurden zur Berechnung des BV-Scores (siehe 3.2.7) nur Proben verwendet, die für die relevanten Keime quantifizierbar waren. Hier konnten 518 Proben in die Auswertung aufgenommen werden. Prävalenzen zu den in 3.2.7 aufgelisteten Keimen sind der Tabelle 8 zu entnehmen.

Treponema pallidum und *Mycoplasma pneumoniae* fanden sich in keiner der untersuchten Frauen und werden nicht in den Tabellen aufgeführt. Um die klassischen STIs zusammenzufassen wurde eine Kategorie (STI pos.) gebildet, die Infektionen mit einem oder mehrerer dieser Keime einschließt: *M. genitalium*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* und HSV 1 und 2.

Während nur 6,2% eine manifeste Infektion mit einem der klassischen sexuell übertragbaren Erkrankungen aufwies, gab es bei fast einem Viertel der BV validen Frauen den Hinweis auf ein gestörtes vaginales Milieu (BV-Score ≥ 2). Einen BV-Score von vier oder fünf war bei 8,5 bzw. 5% der Frauen nachzuweisen. Bei diesen Frauen liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Bakterielle Vaginose vor.

Tabelle 8: Prävalenz untersuchter vaginaler Erreger

| Erreger | n | % (95%-KI) | n Gesamt |
|------------------------------------|-----|------------------|----------|
| STI | | | |
| C. trachomatis | 5 | 0,6 (0,1-1,2) | 779 |
| T. vaginalis | 18 | 2,3 (1,3-3,4) | 779 |
| N. gonorrhoeae | 5 | 0,6 (0,1-1,2) | 779 |
| M. genitalium | 8 | 1,0 (0,3-1,7) | 779 |
| HSV 2 | 12 | 1,5 (0,7-2,4) | 779 |
| HSV 1 | 3 | 0,4 (0,1-1,2) | 779 |
| STI positiv ¹ | 48 | 6,2 (4,5-7,9) | 779 |
| Bakterielle Vaginose | | | |
| A. vaginae | 218 | 28,0 (24,8-31,1) | 779 |
| G. vaginalis | 301 | 38,6 (35,2-42,1) | 779 |
| M. hominis | 78 | 10,0 (7,9-12,1) | 779 |
| Lactobacillus iners | 489 | 62,8 (59,4-66,2) | 779 |
| Alle Laktobazillen | 741 | 95,1 (93,6-96,6) | 779 |
| BV-Score $\geq 2^2$ | 126 | 24,3 (20,6-28,0) | 518 |
| Candida | | | |
| C. albicans | 222 | 28,5 (25,3-31,7) | 779 |
| C. glabrata | 55 | 7,1 (5,3-8,9) | 779 |
| C. krusei | 36 | 4,6 (3,1-6,1) | 779 |
| Candida species | 301 | 38,6 (35,2-42,1) | 779 |
| Andere Mykoplasmen und Ureaplasmen | | | |
| M. spermatophilum | 1 | 0,1 (0,01-0,8) | 779 |
| U. urealyticum | 152 | 19,5 (16,7-22,3) | 779 |
| U. parvum | 427 | 54,8 (51,3-58,3) | 779 |

¹ Zu den STI Positiven werden Frauen mit M. genitalium, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis, Treponema pallidum, HSV 1/2 Infektionen gerechnet

² Der BV-Score errechnet sich aus Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae und Mycoplasma hominis bei erniedrigten Laktobazillen und konnte nur für Fälle berechnet werden, bei denen Laktobazillen quantifizierbar waren (518 Fälle)

Aufgeführt sind nur Frauen, die STI valide waren (n=779). Für die Auswertung der Bakteriellen Vaginose (siehe 3.2.7) waren nur 518 Proben valide.

4.6.2 STIs bei HPV positiven Frauen

Da der Zusammenhang von HPV und anderen vaginalen Erregern untersucht werden sollte, wurde die Prävalenz der Erreger bei HPV und hrHPV Positiven ermittelt, Odds Ratio (OR) und p-Werte mittels Fisher Exact Test errechnet (Tab. 9).

Tabelle 9: Prävalenz, Odds Ratio und p-Wert-Berechnung untersuchter vaginaler Erreger bei HPV und hrHPV positiven Frauen

| Erreger | HPV positiv (n=257) | | | hrHPV positiv (n=172) | | |
|------------------------------------|---------------------|--------------------|--------|-----------------------|--------------------|--------|
| | n (%) | OR (95%-KI) | p-Wert | n (%) | OR (95%-KI) | p-Wert |
| STI | | | | | | |
| C. trachomatis | 5 (1,9) | NA ¹ | 0,004 | 4 (2,3) | 14,43 (1,6-129,95) | 0,010 |
| T. vaginalis | 6 (2,3) | 1,02 (0,38-2,74) | 1,000 | 5 (2,9) | 1,37 (0,48-3,89) | 0,567 |
| N. gonorrhoeae | 3 (1,2) | 3,07 (0,51-18,49) | 0,338 | 1 (0,6) | 0,88 (0,1-7,94) | 1,000 |
| M. genitalium | 6 (2,3) | 6,22 (1,25-31,01) | 0,018 | 2 (1,2) | 1,18 (0,24-5,89) | 0,692 |
| HSV 2 | 10 (3,9) | 10,53 (2,29-48,41) | <0,001 | 8 (4,7) | 7,35 (2,19-24,72) | 0,001 |
| HSV 1 | 1 (0,4) | 1,02 (0,09-11,25) | 1,000 | 1 (0,6) | 1,77 (0,16-19,63) | 0,527 |
| STI positiv ² | 28 (10,9) | 3,07 (1,69-5,56) | <0,001 | 18 (10,5) | 2,25 (1,22-4,14) | 0,011 |
| Bakterielle Vaginose | | | | | | |
| A. vaginae | 85 (33,1) | 1,45 (1,04-2,0) | 0,028 | 60 (34,9) | 1,52 (1,06-2,19) | 0,027 |
| G. vaginalis | 114 (44,4) | 1,43 (1,05-1,94) | 0,023 | 83 (48,3) | 1,66 (1,18-2,34) | 0,004 |
| M. hominis | 48 (18,7) | 3,77 (2,32-6,11) | <0,001 | 39 (22,7) | 4,27 (2,64-6,92) | <0,001 |
| Lactobacillus iners | 176 (68,5) | 1,45 (1,06-1,99) | 0,022 | 118 (68,6) | 1,39 (0,97-1,99) | 0,075 |
| Alle Laktobazillen | 242 (94,2) | 0,74 (0,38-1,45) | 0,381 | 160 (93,0) | 0,6 (0,3-1,01) | 0,161 |
| BV-Score $\geq 2^3$ | 45 (27,3) | 1,26 (0,83-1,92) | 0,323 | 33 (30,6) | 1,5 (0,94-2,4) | 0,101 |
| Candida | | | | | | |
| C. albicans | 84 (32,7) | 1,35 (0,98-1,87) | 0,076 | 58 (33,7) | 1,37 (0,96-1,98) | 0,104 |
| C. glabrata | 17 (6,6) | 0,9 (0,5-1,63) | 0,769 | 13 (7,6) | 1,1 (0,58-2,1) | 0,738 |
| C. krusei | 16 (6,2) | 1,67 (0,85-3,27) | 0,148 | 13 (7,6) | 2,08 (1,03-4,19) | 0,610 |
| Candida species | 110 (42,8) | 1,3 (0,96-1,76) | 0,101 | 77 (44,8) | 1,39 (0,98-1,95) | 0,063 |
| Andere Mykoplasmen und Ureaplasmen | | | | | | |
| M. spermatophilum | 1 (0,4) | NA ⁴ | 0,330 | 1 (0,6) | NA ⁴ | 0,221 |
| U. urealyticum | 60 (23,3) | 1,42 (0,99-2,05) | 0,680 | 40 (23,3) | 1,34 (0,89-2,02) | 0,191 |
| U. parvum | 172 (66,9) | 2,12 (1,55-2,89) | <0,001 | 116 (67,4) | 1,97 (1,38-2,82) | <0,001 |

¹ Alle Chlamydia trachomatis Fälle waren HPV positiv, sodass die OR für HPV und Chlamydien nicht berechenbar ist.

² Zu den STI Positiven werden Frauen mit M. genitalium, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis, Treponema pallidum, HSV 1/2 Infektionen gerechnet

³ Der BV-Score errechnet sich aus Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae und Mycoplasma hominis bei erniedrigten Laktobazillen und konnte nur für Fälle berechnet werden, bei denen Laktobazillen quantifizierbar waren (165 in der HPV- und 108 in der hrHPV-Gruppe)

⁴ Der Fall von M. spermatophilum war hrHPV positiv, sodass die OR für HPV/hrHPV und M. spermatophilum nicht berechenbar ist.

Aufgeführt sind nur Frauen, deren Proben HPV und STI valide waren. P-Werte wurden mittels Fisher Exact Test berechnet.

Hier werden diese Gruppen jeweils mit den HPV Negativen bzw. hrHPV Negativen verglichen. Alle Chlamydienfälle waren HPV positiv und vier der fünf Fälle hrHPV positiv, sodass sich nur für die zweite Gruppe (hrHPV) eine OR berechnen ließ. Für HSV 2 und die zusammengefassten STIs ergaben sich signifikante OR und p-Werte für HPV und hrHPV Positive. Für Mycoplasma

genitalium war der Zusammenhang nur bei den HPV Positiven zu sehen, nicht aber bei den hrHPV Positiven. Auch ergaben sich signifikant höhere Raten an Atopobium vaginae, Gardnerella vaginalis und Mycoplasma hominis für beide Gruppen, wenn auch der BV-Score nicht zu korrelieren schien.

4.7 HPV-Antikörper in der Serologie

Mittels Multiplex Serologie konnten alle 784 Frauen auf HPV-Antikörper untersucht werden. Hier wurde ein Augenmerk auf bestimmte Hochrisiko-HPV (16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58) und die zwei Kondylom-verursachenden Niedrigrisiko-HPV Typen (6, 11) gerichtet. Zu allen HPV-Typen wurden die L1-Antikörper und für HPV 16, als häufigster kanzerogener Typ, auch die E6 und E7 Antikörper bestimmt. Die HPV-Prävalenz in der Serologie, aufgeteilt nach Stadt und Land, sowie die Häufigkeit einzelner HPV-Antikörper sind Tabelle 10 und Abbildung 10 zu entnehmen.

Frauen über 30 waren etwas häufiger Antikörper positiv als Frauen bis 29 Jahre (24,5 vs. 19,6% (95%-KI: 18,3 - 30,6% und 16,4 - 22,8%)).

Tabelle 10: Prävalenz verschiedener HPV-Antikörper unterteilt nach Stadt und Land

| | Stadt (n=630) | | Land (n=153) | | Gesamt (n=784) | |
|--------------------|---------------|-------------------------|--------------|------------------------|----------------|------------------|
| | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) | n | % (95%-KI) |
| HPV positiv | 141 | 22,4 (19,1-25,6) | 22 | 14,4 (8,8-19,9) | 163 | 20,8 (18,0-23,6) |
| HPV 16 E6/7 | 7 | 1,1 (0,3-1,9) | 1 | 0,7 (0,03-4,1) | 8 | 1,0 (0,3-1,7) |
| Multiple | 51 | 8,1 (6,0-10,2) | 6 | 3,9 (0,8-7,0) | 57 | 7,3 (5,5-9,1) |
| Single | 90 | 14,3 (11,6-17,0) | 16 | 10,5 (5,6-15,3) | 106 | 13,5 (11,1-15,9) |
| hrHPV | 106 | 16,8 (13,9-19,7) | 20 | 13,1 (7,7-18,4) | 126 | 16,1 (13,5-18,6) |
| lrHPV | 57 | 9,0 (6,8-11,3) | 3 | 2,0 (0,5-6,1) | 60 | 7,7 (5,8-9,5) |

Die Begriffe Stadt und Land beziehen sich auf jemals Stadt und nur Land als Herkunft. Bei einer Frau fehlen Angaben zur Herkunft. Für HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 und 58 wurden Antikörper gegen L1 bestimmt, für HPV 16 zusätzlich gegen E6- und E7-Proteine. Die HPV-Positivität bezieht sich auf mindestens ein positives Protein für einen HPV-Typ. Wesentliche Unterschiede sind fettmarkiert.

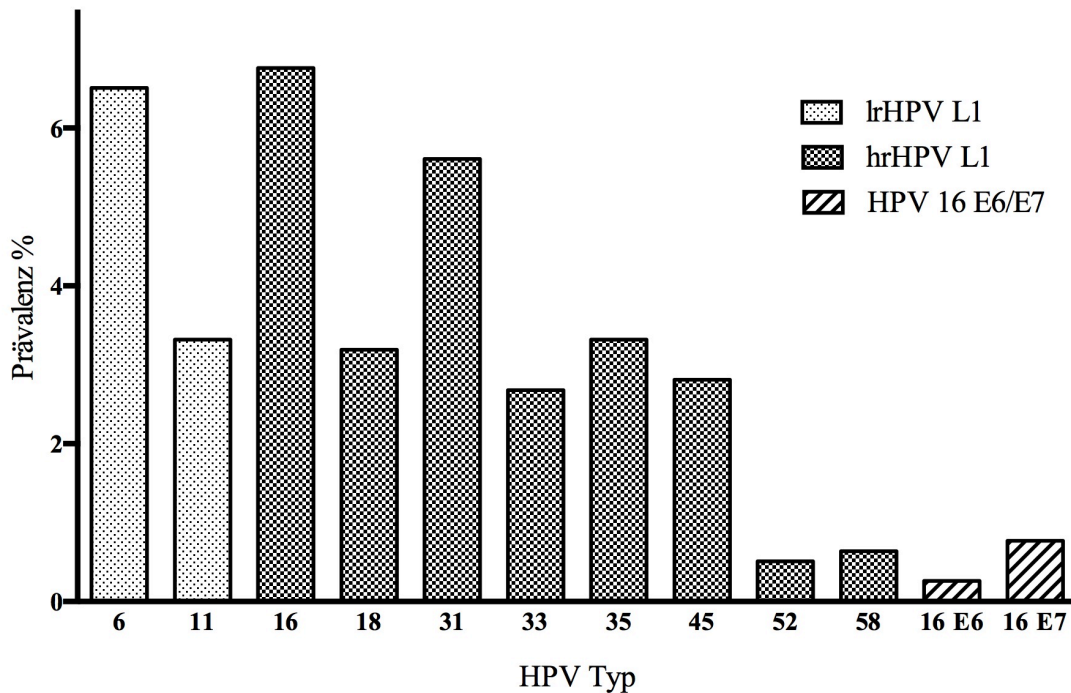


Abbildung 10: Prävalenz einzelner HPV-Antikörper

Aufgeführt sind die L1-Antikörper für low-risk (lr) und high-risk (hr) HPV-Typen, sowie E6- und E7-Antikörper für HPV 16.

4.8 HPV-DNA und HPV-Antikörper im Vergleich

Während die vaginale Lavage den momentanen vaginalen HPV-Status wiedergibt, soll die HPV-Serologie einen Überblick über schwerere HPV-Infektionen in den letzten Jahren darstellen. Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen HPV-Typen in der Serologie unterscheidet sich von der der vaginalen DNA. HPV 16 war bei beiden Untersuchungen der häufigste Typ, jedoch stellte sich der zweithäufigste vaginale Typ, HPV 52, als seltenster serologischer Typ dar. Andere Typen, die bei den aktuellen Infektionen eher selten vorkamen, zeigten im Vergleich zu HPV 16 recht häufig eine Serokonversion (HPV 18, 33, 35, 45). HPV 31 kam serologisch als zweithäufigster Typ kaum seltener vor als HPV 16, obwohl er kein besonders häufiger Typ bei den vaginalen Infektionen darstellte. Während HPV 16 vaginal etwa dreimal häufiger als die Niedrigrisiko-Typen HPV 6 und 11 nachweisbar war, unterschied sich die Seroprävalenz von HPV 16 und HPV 6 nur unwesentlich.

Einen Überblick über die DNA-Positivität, die Serokonversion und das gleichzeitige Vorhandensein einer vaginalen HPV-Infektion mit Serokonversion für den gleichen Typ, bietet Tabelle 11.

Tabelle 11: Überblick über die DNA-Positivität, die Serokonversion und deren Konkordanz

| | DNA - und AK - | DNA + und/oder AK + | Unter DNA + und oder AK + ¹ | | |
|--------|----------------|---------------------|--|------------|----------------|
| | | | Nur DNA + | Nur AK + | DNA + und AK + |
| HPV 6 | 719 (91,7%) | 65 (8,3%) | 14 (21,5%) | 49 (75,4%) | 2 (3,1%) |
| HPV 11 | 754 (96,2%) | 30 (3,8%) | 4 (13,3%) | 25 (83,3%) | 1 (3,3%) |
| HPV 16 | 693 (88,4%) | 91 (11,6%) | 38 (41,8%) | 39 (42,9%) | 14 (15,4%) |
| HPV 18 | 754 (96,2%) | 30 (3,8%) | 5 (16,7%) | 24 (80,0%) | 1 (3,3%) |
| HPV 31 | 724 (92,3%) | 60 (7,7%) | 16 (26,7%) | 43 (71,7%) | 1 (1,7%) |
| HPV 33 | 761 (97,1%) | 23 (2,9%) | 2 (8,7%) | 21 (91,3%) | 0 |
| HPV 35 | 744 (94,9%) | 40 (5,1%) | 14 (35,0%) | 25 (62,5%) | 1 (2,5%) |
| HPV 45 | 758 (96,7%) | 26 (3,3%) | 4 (15,4%) | 22 (84,6%) | 0 |
| HPV 52 | 746 (95,2%) | 38 (4,8%) | 34 (89,5%) | 4 (10,5%) | 0 |
| HPV 58 | 764 (97,4%) | 20 (2,6%) | 15 (75,0%) | 5 (25,0%) | 0 |

¹ Prozentangaben in den Spalten beziehen sich nur auf diese Gruppe (Spalte 2)

HPV-Infektionen aufgeteilt in vaginale Infektion zum Untersuchungszeitpunkt (DNA+) und stattgehabter Serokonversion (Antikörper (AK) +). Es wird auch das gleichzeitige Bestehen einer Infektion und der Seronarbe für den gleichen HPV-Typ dargestellt.

Eine vaginale Infektion mit Seropositivität für den gleichen HPV-Typ fand sich für HPV 16 bei 14 Frauen. Zwei Frauen waren HPV 6 vaginal und serologisch positiv, während jeweils eine Probandin HPV 11, 18, 31 und 35 DNA und Antikörper nachwies. Andere vaginale HPV-Infektionen wiesen keine Serokonversion auf.

5 Diskussion

Das mit humanen Papillomviren (HPV) assoziierte Zervixkarzinom ist bis heute die zweithäufigste Krebsentität bei äthiopischen Frauen. Während in vielen westlichen Industrienationen durch eine mehr oder weniger gut organisierte Früherkennung eine drastische Reduktion der Karzinomfälle (Sekundärprävention) herbeigeführt wurde und die HPV-Impfung (Primärprävention) eine weitere Reduktion in Aussicht stellt, gibt es nur an wenigen Zentren in afrikanischen Entwicklungsländern, wie in Äthiopien, die Möglichkeit einer Vorsorgeuntersuchung. Eine HPV-Impfung wurde bislang nicht eingeführt, da es keine ausreichenden epidemiologischen Daten gibt, die Voraussetzung für die Teilnahme an Impfstudien und subventionierten Impfkampagnen sind [1, 37, 43].

Die Datenlage zu HPV in Äthiopien beschränkt sich auf wenige Regionen. Deshalb sollte eine umfassende Studie zur Erfassung der HPV-Prävalenz und ihren Risikofaktoren bei symptomlosen schwangeren Frauen durchgeführt werden. In dieser Arbeit wurden 784 Frauen auf vaginale HPV-Infektionen, serologische HPV-Antikörper, aber auch auf STI (Sexually Transmitted Infections) untersucht und nach soziodemographischen Faktoren befragt. Eine verbesserte Studienlage soll der Wegbereiter zur Einführung geeigneter Screening-Maßnahmen und einer HPV-Impfung darstellen.

5.1 Studienkollektiv

Das Ziel war es, eine Aussage über die HPV-Prävalenz in der Normalbevölkerung zu treffen. Die Schwangerenvorsorge bot die Möglichkeit einer vaginalen Untersuchung von 18 bis 45-jährigen Frauen, wie sie aus Gründen der Privatsphäre auf den Dörfern und in Privathaushalten nicht durchführbar gewesen wäre. Gleichzeitig musste eine Verzerrung in Kauf genommen werden, da es sich um Schwangere handelt, die einen etwas anderen immunologischen Status aufweisen. Die Studienlage hierzu ist jedoch nicht eindeutig. Einige Studien weisen höhere HPV-Prävalenzen als bei nicht-schwangeren Frauen auf [94-96]. Viele Studien mit Follow-up und Inzidenzberechnung zeigten jedoch keine Unterschiede [97-101]. In der vorliegenden Studie zeigte sich eine etwas reduzierte HPV-Prävalenz im dritten Trimenon gegenüber früheren Schwangerschaftszeitpunkten, die sich aber unter Umständen durch eine Reduktion der sexuellen Kontakte bei höherem Schwangerschaftsalter erklären lassen.

Um zu vermeiden, dass Erkrankte überproportional zur Normalbevölkerung eingeschlossen werden, wurden Frauen ausgeschlossen, die wegen genitaler Symptomatik die Sprechstunde aufsuchten. Somit erfasst die Studie symptomlose, fertile Frauen zwischen 18 und 45 Jahren und einige aus der Verhütungssprechstunde, bei denen der Fertilitätsstatus unbekannt ist. Durch

diese Auswahl wurden nur Frauen mit einem gewissen Maß an Gesundheitsbewusstsein erfasst, da nur solche Frauen zur Vorsorgeuntersuchung gehen. Laut Demographic Health Survey 2011 gehen in Äthiopien knapp über die Hälfte der Schwangeren nicht zur Schwangerenvorsorge. Diese Frauen wurden in der vorliegenden Studie nicht berücksichtigt. Auch andere Faktoren dieser Studie, wie die niedrigere Hausgeburtenrate und die höhere Rate an Kontrazeptiva-Verwendung, als in der Literatur beschrieben, lassen auf eine Selektion schließen [61]. Nur Frauen in Reichweite einer Gesundheitsstation können dort zur Schwangerenvorsorge gehen, gebären oder Verhütungsmittel erhalten. Da diese Studie in Gesundheitsstationen durchgeführt wurde, erfasst sie vor allem diese Frauen. Da die Schwangerenvorsorge, sowie der dazugehörige HIV-Test kostenlos sind, wurden keine Probandinnen aufgrund ihrer Armut von der Studie ausgeschlossen.

Durch die verschiedenen Untersuchungsorte konnten alle vorherrschenden Religionen und Ethnien, mit einer Mindestzahl von 1 Mio. (bei der Einwohnerzahl von 85 Mio.) in Äthiopien, in die Studie eingeschlossen werden. Laut dem Zensus von 2007 leben 83,9% der Bevölkerung auf dem Land und nur 16,1% in der Stadt [60]. In dieser Arbeit wurden die Frauen nach Lebenszeit im städtischen und ländlichen Milieu eingeteilt. Erwartungsgemäß war der städtische Anteil höher, da die Einrichtungen häufig in städtischen Gegenden lagen. Insgesamt hatten aber nur 36,7% ihr ganzes Leben in einer Stadt verbracht, die anderen waren, häufig aufgrund der Eheschließung, zugezogen.

5.2 Humane Papillomvirus DNA in vaginalen Proben

5.2.1 HPV-Prävalenz

In dieser Studie wurden 784 Frauen auf 51 mukosale HPV-Typen untersucht, von denen 14 zu den Hochrisiko-, sechs zu den möglichen Hochrisiko- und 31 zu den Niedrigrisiko-Typen zählen.

Bei den durchschnittlich 25,9 Jahre alten Frauen wurde eine HPV-Prävalenz von 33,2% (95%-KI: 29,9-36,5) festgestellt, wobei 22,1% (95%-KI: 19,2-25,0) der untersuchten Frauen mindestens einen Hochrisiko- und 18,5% (95%-KI: 15,8-21,2) mindestens einen Niedrigrisiko-Typ aufwiesen. Die Prävalenz bei jungen, sexuell aktiven Frauen war erwartungsgemäß hoch. Studien berichten insgesamt von hohen HPV-Raten in Ostafrika. Bruni et al. fasste 2010 Ergebnisse aus weltweit 194 Studien zusammen und ermittelte für Ostafrika eine Gesamtprävalenz von 33,6% [44]. Eine Studie aus Tansania ergab 34% HPV positive Frauen in der Schwangerenvorsorge, also in einem mit unserer Studie vergleichbaren Kollektiv [102]. Andere Studien weisen etwas niedrigere Prävalenzen (20,1% hrHPV) auf [103]. Zwei Studien, die

Frauen in Belgien und der Mongolei mittels MPG untersucht haben, weisen Gesamtprävalenzen von 37,1 und 36,7% HPV positive Frauen auf [19, 86]. Die in verschiedenen Studien verwendeten HPV-Nachweismethoden unterscheiden sich in ihrer Sensitivität und der Anzahl detektierter HPV-Typen. Die Multiplex Papillomvirus Genotypisierung (MPG), wie sie in dieser Studie durchgeführt wurde, gehört zu den sensitivsten Methoden und schließt die höchste Anzahl an mukosalen HPV-Typen ein. Es ist also zu erwarten, dass Studien, wie die von Dartell et al. 2012, mit der Hybrid Capture II Methode niedrigere Prävalenzen errechnen [103, 104].

Bislang gibt es nur zwei Studien aus dem ländlichen Äthiopien zu HPV in der Normalbevölkerung [73, 74]. Hier ergaben sich eine Gesamtprävalenz von 17,5% (16% hrHPV) und 15,9% (13,2% hrHPV). Die geringen Unterschiede zwischen der Gesamtprävalenz und der hrHPV-Prävalenz entstehen durch die niedrige Anzahl an eingeschlossenen lrHPV-Typen. Diese Daten können vor allem mit dem ländlichen Teil der vorliegenden Studienpopulation verglichen werden (siehe 5.2.3). Die großen Unterschiede der HPV-Prävalenz (18,1 bis 40,3%) in verschiedenen Regionen zeigen, wie variabel Prävalenzen je nach Studienort ausfallen können und wie wichtig es ist, mehrere Studienorte für eine landesweite Berechnung mit einzuschließen.

123 Frauen (15,7% (95%-KI: 13,1-18,2)) zeigten multiple HPV-Typen. Mischinfektionen fanden sich häufig, wobei nur 19 Frauen (2,4%) fünf oder mehr HPV-Typen aufwiesen. Risikofaktoren für Mischinfektionen sind eine sehr hohe Promiskuität, wie sie zum Beispiel bei Prostituierten vorkommt, oder eine Infektion mit HIV, die zur Immunsuppression führt [105-107].

Die Studienlage zur Bedeutung der Viruslasten ist beschränkt, wobei erhöhte Viruslasten auf schwerere Infektionen hinzuweisen scheinen und bei Karzinompatientinnen (aber auch Frauen mit L/HSIL) regelmäßig nachgewiesen werden können [19-21]. Für die 13,8% (95%-KI: 11,4-16,2) der Frauen in dieser Studie, die mindestens einen hrHPV-Typ mit hoher Viruslast aufwiesen, bedeutet dies unter Umständen ein erhöhtes Risiko für zervikale Veränderungen. Eine zytologische Auswertung war im Rahmen der angewandten Methodik nicht möglich, hätte aber Aufschluss über bereits vorhandene klinische Veränderungen liefern können.

5.2.2 HPV-Typen und ihre Viruslast

HPV 16 war mit 6,6% in dieser Studie der weitaus häufigste nachgewiesene HPV-Typ, so wie es weltweit Studien über Frauen aus der Normalbevölkerung bestätigen [9, 108]. Gleichzeitig ist dies aber auch der Typ, der am häufigsten bei Zervixkarzinompatientinnen gefunden wird [17]. In Äthiopien, so wie in angrenzenden Staaten, bestätigen Untersuchungen die Dominanz dieses Typs bei gesunden Frauen und Karzinompatientinnen [74-77, 109]. Auffällig ist der relativ niedrige Anteil (48,1%) an Infektionen mit hoher Viruslast im Vergleich zu anderen HPV-

Typen (82,6% bei HPV 39 und 89,5% bei HPV 66), was für einen großen Anteil an flüchtigen Infektionen spricht.

Während HPV 16 in den meisten Studien der häufigste Typ zu sein scheint, ist die Häufigkeit der anderen HPV-Typen regional unterschiedlich. In dieser Studie zeigte sich HPV 52 mit 4,3% als zweithäufigster Typ, was sich auch mit der Studie von Leyh-Bannurah im südlichen Äthiopien deckt [74]. Während in Asien und Europa HPV 52 nicht ganz so häufig vorkommt, zeigen zwei Untersuchungen aus den ostafrikanischen Ländern Uganda und Tansania HPV 52 als häufigsten Typ [97, 103].

Laut Bruni et al. ist HPV 18 bei gesunden Frauen der zweithäufigste Typ [44]. Viele Studien zeigen aber deutlich niedrigere Prävalenzen, wie es auch im vorliegenden Kollektiv der Fall war (0,8%) [19, 46, 74, 94, 97]. Unbestritten ist jedoch die weltweite Häufigkeit von HPV 18 bei Zervixkarzinompatientinnen [10].

Ein weiterer seltener hrHPV-Typ dieser Studie ist HPV 45. Er kam nur in Mischinfektionen vor und wies in den meisten Fällen eine hohe Viruslast auf. Auch HPV 45 ist einer der häufigsten HPV-Typen bei Karzinompatientinnen weltweit und in Äthiopien [17, 75, 76]. Ähnliches gilt auch für HPV 58, obwohl bei diesem Typ die Anzahl an Infektionen mit hoher Viruslast niedriger war.

Für HPV 6 und 11 zeigten sich Prävalenzen von 2 und 0,6% in der untersuchten Gruppe. Einige Frauen wiesen sichtbare Kondylome auf. Untersuchungen weltweit weisen für diese und andere Niedrigrisiko-Typen sehr unterschiedliche Prävalenzen auf: 0,6-5,3% für HPV 6 und 1,4-3,4% für HPV 11 [86, 97, 102].

Bei der Frage nach der Effektivität einer Impfung, sind die Daten dieser Studie in Kombination mit HPV-Studien bei Zervixkarzinompatientinnen zu sehen (siehe 5.6).

5.2.3 HPV-Prävalenz nach Stadt und Land

Studien aus verschiedenen Ländern zeigen Unterschiede bezüglich HPV-Prävalenzen in städtischen und ländlichen Regionen und weisen unterschiedliche und teilweise gegensätzliche Ergebnisse auf. Eine Studie aus Litauen zeigt niedrigere Prävalenzen auf dem Land, eine aus Mali höhere und eine aus Brasilien stellte keine Unterschiede fest [110-112]. Hierbei muss man bedenken, dass nicht der Faktor Stadt oder Land einen schützt oder prädisponiert, sondern die dort herrschenden Sitten, die örtliche Infra- oder auch Familienstruktur. Diese kulturellen Unterschiede können von Land zu Land variieren. Auch die Definition von ländlich kann abweichen. So unterscheidet sich ein weit von der Teerstraße entferntes Dorf, wo Männer und Frauen als Bauern zusammen arbeiten, von Dörfern auf dem Land an einer Hauptverkehrsstraße, wo zudem viele Männer in einer nahegelegenen größeren Stadt arbeiten. In

diesen beiden ländlichen Gebieten sind der Durchfluss verschiedener Papillomviren und damit die Prävalenz denkbar unterschiedlich.

In dieser Studie zeigte sich ein starkes Stadt-Land-Gefälle von 36,8% (95%-KI: 33,1-40,6) zu 17,6% (95%-KI: 11,6-23,7) in der HPV-Positivität. Auch die multivariate Regressionsanalyse ergab eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Faktor Stadt und der HPV-Prävalenz (OR 2,36 (95%-KI: 1,47-3,79); p-Wert <0,001). Zwei Studien aus einem ländlich gelegenen Krankenhaus im Südwesten Äthiopiens zeigen bei einer etwas älteren Studienpopulation und der nicht so sensitiven Hybrid Capture II Methode eine HPV-Prävalenz von 17,5 und 15,9% und ist mit den hier dargestellten Ergebnissen vergleichbar [73, 74]. Leyh-Bannurah beschrieb 2014 eine signifikant niedrigere HPV-Prävalenz bei Frauen, die in strohgedeckten Hütten leben und wertet den damit verbundenen Lebensstil als traditioneller und ländlicher, im Vergleich zu anderen Bauformen [74]. Gerade das ländliche Äthiopien ist sehr traditionell und religiös, so dass eine geringere Promiskuität auf dem Land anzunehmen ist. Dies wird in kleineren Gemeinschaften, wie es sie vor allem auf dem Land gibt, auch durch eine Art soziale Kontrolle bewirkt, da sich alle im Dorf kennen. Je abgelegener ein Gebiet liegt, desto weniger HPV-Infektionen werden von außen in dieses System hinein gebracht. Auch kann eine traditionellere Lebensweise beinhalten, dass Frauen früher heiraten und dadurch insgesamt weniger Geschlechtspartner in der Vergangenheit hatten. Ein weiterer Grund für den beschriebenen Unterschied kann die höhere HIV-Prävalenz in äthiopischen Städten sein. Bei Frauen zwischen 15 und 49 Jahren liegt die HIV-Prävalenz in städtischen Gebieten bei 5,2%, während es auf dem Land nur 0,8% sind [61]. HIV begünstigt durch die Immunsuppression HPV-Infektionen [113]. Zum HIV-Status der Frauen fehlen in dieser Studie die Daten. Andere in der Literatur erwähnte Risikofaktoren für HPV wie geringe Bildung, die Verwendung von hormonhaltigen Kontrazeptiva und Parität scheinen in Äthiopien nicht so bedeutend zu sein (5.3).

Die niedrigere HPV- und hrHPV-Prävalenz, bei gleichzeitig höherem Anteil an hrHPV mit hoher Viruslast unter den hrHPV Positiven auf dem Land, lässt vermuten, dass in der Stadt mehr harmlose, transiente Infektionen durch den größeren Pool an potentiellen Trägern kursieren. Eine erhöhte Viruslast kann ein Hinweis auf die Persistenz einer Infektion sein [114]. Studien zeigten, dass bestimmte Varianten der hrHPV-Typen, vor allem Varianten des HPV 16, eher zur Persistenz neigen als andere [115, 116]. Dies könnte eine Erklärung der erhöhten Viruslast, und unter Umständen Persistenz, auf dem Land sein. In ländlicher Umgebung halten sich unter Umständen nur Varianten, die länger persistieren und deswegen trotz niedriger Promiskuität weitergegeben werden können. Flüchtige Infektionen heilen oft schon vor einer möglichen Weitergabe an andere Sexualpartner aus. Auch eine Infektion mit HIV kann zu einer

erhöhten Viruslast führen, ist jedoch in Äthiopien wie oben beschrieben eher häufiger in Städten vorzufinden [61, 117].

Die in dieser Studie abgebildeten Daten erfassen einen größeren Anteil an städtischer Population als sie in Äthiopien vorhanden ist. Dies führt vermutlich zu einer Überschätzung der tatsächlichen HPV-Prävalenz in der äthiopischen Bevölkerung. Diese Studie liefert jedoch ein Abbild der medizinisch erreichbaren Population in Äthiopien, die eine hohe HPV-Prävalenz aufweist und daher eine Form der Impfung als Primärprävention und des Screenings als Sekundärprävention dringend nötig erscheinen lässt.

5.3 Risikofaktoren in der multivariaten Analyse

Um die Korrelation zwischen Infektionen mit humanen Papillomviren und möglichen Risikofaktoren darzustellen, wurde eine binominale Regressionsanalyse durchgeführt. In diesem multivariaten Verfahren werden Korrelationen aller eingeschlossenen Faktoren bei der Berechnung der einzelnen Korrelation berücksichtigt. So kann man beispielsweise ungünstige Verteilungen herausrechnen. Mögliche Faktoren wie Rauchen und Chlamydien- oder HSV 2-Infektionen wurden jedoch wegen der niedrigen Prävalenz nicht berücksichtigt.

Die multivariate Analyse zeigte eine signifikante Korrelation zwischen dem Faktor Stadt und der HPV-Prävalenz mit einer Odds Ratio von 2,36 (95%-KI: 1,47-3,79) und einem p-Wert von $<0,001$. Mögliche Gründe hierfür wurden bereits im Abschnitt 5.2.3. besprochen.

Das Alter bei erstem Geschlechtsverkehr ist, nach der Anzahl vergangener Geschlechtspartner, ein häufig genannter Risikofaktor für HPV-Infektionen [29, 97, 108, 111]. Auch in dieser Studie zeigte sich im Gesamtkollektiv und bei den Frauen aus der Stadt eine signifikante Korrelation (OR 1,86 (95%-KI: 1,02-3,41) und 2,18 (95%-KI: 1,14-4,17); p-Werte 0,043 und 0,019). Die Gruppe der Frauen auf dem Land konnte wegen der niedrigen Fallzahl aus statistischen Gründen nicht gesondert betrachtet werden. Ein denkbarer Grund für die Korrelation zwischen HPV-Positivität und jungem Alter bei sexuellem Debut, könnte der promiskuitivere Lebensstil dieser Frauen sein. Dieser Faktor ist auch Jahre nach Beginn der sexuellen Aktivität nachweisbar und somit nicht direkt auf die früh erworbenen HPV-Infektionen zurück zu führen, da diese bereits ausgeheilt sind.

Das Thema Polygamie spielt in manchen Regionen Äthiopiens eine größere Rolle als in anderen. Da durch zusätzliche Frauen des Ehemanns eine weitere HPV-Quelle in Betracht kommt, liegt die Vermutung nahe, Frauen in polygamen Ehen könnten häufiger HPV-Infektionen aufweisen [118]. Die hier vorliegenden Daten zeigen ein erhöhtes Risiko einer HPV-Infektion in polygamen Ehen in der Gruppe Stadt (OR 1,62 (95%-KI: 1,0-2,63); p-Wert

0,05). In der Gesamtgruppe lässt sich dieser Trend nicht bestätigen, was darauf schließen lässt, dass der Faktor Stadt/Land in der Regressionsanalyse als zu starker Faktor die Signifikanz der Polygamie in der Gesamtgruppe schwächt.

Viele Untersuchungen berichten von altersabhängigen HPV-Prävalenzen. Jüngere, sexuell aktivere Frauen weisen mehr HPV auf als ältere verheiratete Frauen [44, 86]. Diese Unterschiede ließen sich in dieser, wie auch in einigen anderen Studien, nicht erkennen [46]. Zum einen ist die Altersspanne nicht sehr groß, so dass es keine geeignete Vergleichsgruppe gibt. Zum anderen waren auch die jüngeren Probandinnen bereits verheiratet, so dass das Risikoverhalten bei den Frauen trotz unterschiedlichen Alters ähnlich war.

Andere Risikofaktoren werden von Studien kontrovers diskutiert. Die Benutzung von hormonhaltigen Kontrazeptiva erwies sich in dieser Studie nicht als korrelierender Risikofaktor, obwohl einige Studien von einem Zusammenhang ausgehen [108, 119]. Dieses Ergebnis kann zum einen mit dem jungen Alter der Frauen in dieser Population erklärt werden, von denen zwar viele (70,7%) hormonhaltige Kontrazeptiva verwenden, aber aufgrund ihres jungen Alters und dem spät einsetzenden Geschlechtsverkehr dieser Einfluss eher kurzzeitig ist. Zum anderen werden in Äthiopien vor allem Drei-Monats-Spritzen und Hormonimplantate (reine Gestagenpräparate) verwendet, während andere Studien vor allem Frauen mit oralen Kontrazeptiva (häufig Kombinationspräparate) untersucht haben. Aber auch hier gibt es nicht immer eine Korrelation [46, 86].

Eine geringere Schulbildung wird in einigen Untersuchungen als korrelierender Faktor aufgeführt, andere Studien zeigen keine Korrelation [24, 86, 120]. Ein Faktor, der für diese These spricht, ist die damit verbundene niedrigere Gesundheitsbildung, die möglicherweise zu risikoreicherem Sexualverhalten führt. Dieser Faktor ist jedoch anfällig, da wenig Bildung vor allem im ländlichen Bereich auch für eine traditionellere Lebensweise mit risikoärmerem Verhalten sprechen könnte. Die multivariate Analyse in dieser Studie zeigte keine Korrelation zwischen HPV und dem Bildungsniveau der Frauen, weder in der Gesamtgruppe noch in der Stadt. Bildung scheint, zumindest in dieser Form, keinen Einfluss auf die HPV-Prävalenz zu haben. Die Korrelation zwischen HPV und der Anzahl geborener Kinder variiert in der Literatur [30, 86] und konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden.

Während sich einige Studien mit der Übertragung von HPV bei beschnittenen Männern befassen und diesbezüglich auch eine negative Korrelation gefunden wurde, wird die weibliche Beschneidung selten erwähnt [121]. Da dieses Ritual nur in einigen afrikanischen Ländern durchgeführt und somit in weltweiten Studien zu HPV nicht thematisiert wird, liegt wenig Information hierzu vor. Trotzdem schien eine vaginale Manipulation beim Betrachten von vaginalen Infektionen nicht irrelevant zu sein und wurde in die multivariate Analyse

eingeschlossen. Es gab jedoch weder in einer der wenigen Untersuchungen vor Ort noch in dieser Studie eine Korrelation zwischen der weiblichen Beschneidung und HPV [74].

5.4 HPV-Antikörper in der Serologie

Die serologische Untersuchung auf Antikörper gegen die Strukturproteine L1, E6 und E7 verschiedener HPV-Typen erlaubt einen Überblick über die von der Frau durchgemachten HPV-Infektionen, die in den vergangenen Jahren zu einer Serokonversion geführt haben. Flüchtige und auch einige persistierende Infektionen führen nicht zu einer Immunantwort, so dass viele vergangene Infektionen hier nicht abgebildet werden. Es wurde nur auf acht Hochrisiko-Typen (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58) und HPV 6 und 11 untersucht.

5.4.1 Prävalenz der HPV-Antikörper

Ein direkter Vergleich mit anderen Studien ist aufgrund der Methodik nur eingeschränkt möglich. Viele Studien untersuchten lediglich HPV 6, 11, 16 und 18, was die Gesamtprävalenzen beeinflusst. Die Prävalenz für HPV-Antikörper-Positivität in dieser Studie lag bei 20,8%. 16,1% wiesen Antikörper gegen mindestens einen der acht untersuchten hrHPV-Typen auf. Die anderen 4,7% hatten nur Antikörper gegen HPV 6 oder 11. Eine Studie aus der Mongolei mit der gleichen Methode bei etwas älteren Frauen zeigte 38% hrHPV-Antikörper. Eine Studie unter südkoreanischen Studenten zeigte 25% HPV Positive. Prävalenzen unterscheiden sich je nach untersuchtem Kollektiv (Alter, Ehestand, Promiskuität) stark voneinander.

HPV 16 E6- oder E7-Antikörper konnten in dieser Untersuchung bei 1% der Frauen festgestellt werden. Diese Antikörper werden gegen Proteine (early protein 6/7) gebildet, die auf ein kanzerogenes Potential der Infektion hindeuten. Bei diesen Frauen liegt oder lag höchstwahrscheinlich eine schwere HPV 16 Infektion vor.

Die Häufigkeitsverteilung unter den Typen bei aktuellen vaginalen Infektionen (DNA) unterschied sich von der im serologischen Nachweis. Antikörper gegen HPV 16 fanden sich bei 6,8% der Frauen und war somit auch serologisch der häufigste HPV-Typ. Studien berichten von einer höheren Serokonversionsrate von HPV 16 im Vergleich zu anderen HPV-Typen [34]. HPV 31 konnte als zweithäufigster Typ bei 5,6% nachgewiesen werden, obwohl er vaginal nicht besonders häufig detektiert wurde. Im Gegensatz zu HPV 52, der als zweithäufigster vaginaler Typ der seltenste serologische Typ war, konnten HPV 18, 33 und 45 serologisch häufig identifiziert werden, obwohl sie selten unter den vaginalen Infektionen zu finden waren. Diese drei Typen, ebenso wie HPV 31 und 35, scheinen zur Serokonversion zu neigen. Die Niedrigrisiko-HPV-Typen 6 und 11 zeigten eine mehr als dreimal so hohe Seroprävalenz im

Vergleich zur vaginalen DNA-Prävalenz. Auch hier scheint es häufiger zur Serokonversion zu kommen.

Die Konkordanz zwischen aktuellen vaginalen HPV-Infektionen und der Seropositivität war bis auf HPV 16 sehr niedrig. Nur bei diesem Typ waren 14 Frauen für DNA und Antikörper positiv. Diese Tendenz zeigen auch Studien mit höherer Seroprävalenz [86, 122, 123]. Die Seropositivitäten ohne aktuelles DNA-Äquivalent, bei gleichzeitig hoher DNA-Prävalenz anderer HPV-Typen, deuten auf die hohe Anzahl ausgeheilte Infektionen hin. Nur einige Infektionen scheinen zur Serokonversion zu führen. Insgesamt war die Seroprävalenz niedrig, was vor allem am jungen Alter der Frauen, aber auch am relativ späten Beginn der sexuellen Aktivität mit durchschnittlich 19,1 Jahren liegt. Einige Studien stellten eine deutliche Zunahme der Seropositivität in höheren Altersgruppen fest, die in dieser Studie nur in Ansätzen gezeigt werden [86, 122]. Dies ist wohl der Tatsache geschuldet, dass in diesem Kollektiv nur Frauen bis maximal 45 Jahren untersucht wurden. Es gibt somit keine viel ältere Vergleichsgruppe und fast alle Frauen befanden sich in der gleichen Lebenssituation, also verheiratet und schwanger.

Äthiopische Studien zu hrHPV bei Zervixkarzinompatientinnen berichten, dass die Typen 16, 18, 52, 45, 58 am häufigsten und dann erst die Typen 31, 35 und 33 mit einem Karzinom assoziiert waren [75-77]. Dies zeigt wiederum, dass die Seroprävalenz, wie auch die vaginale DNA-Prävalenz, im Allgemeinen nichts über das onkogene Potential aussagt. Die karzinomassoziierten Typen sind weder nur die häufigen (HPV 16 und 52) oder weniger häufigen HPV-Typen (HPV 18 und 45), noch die Typen, die eher zur Serokonversion neigen. Alle Typen unterscheiden sich in ihrer Infektiosität, Immunogenität und Kanzerogenität.

5.4.2 HPV-Antikörper nach Stadt und Land

Auch in der Serologie zeigten sich Unterschiede in der HPV-Prävalenz zwischen städtisch und ländlich lebenden Frauen. Probandinnen, die in der Stadt gelebt hatten, wiesen 22,4% (19,1-25,6) Seropositivität für mindestens einen der untersuchten HPV-Typen auf, während es auf dem Land nur 14,4% (8,8-19,9) waren. Diese Unterschiede sind nicht so ausgeprägt, wie die vaginale DNA-Analyse vermuten lässt. Eine Erklärung hierfür wäre, dass viele Frauen erst in den letzten Jahren wegen der Eheschließung in die Stadt gezogen sind und davor unter ländlichem Einfluss standen. Dieser Anteil der Frauen würde die Seroprävalenz in der Stadt senken. Ein anderer Grund könnten die im Schnitt etwas schwereren Infektionen auf dem Land sein, auf welche die höhere Viruslast in der HPV-DNA hinweist (siehe 5.2.3). Diese schwereren, persistierenden Infektionen neigen eher zur Serokonversion als flüchtige

Infektionen mit niedriger Viruslast. Die Seroprävalenz könnte auf dem Land dadurch etwas erhöht sein.

Ein weiterer Unterschied lag in der Prävalenz der Niedrigrisiko-Typen HPV 6 und 11. Während unter den Serologie positiven Frauen in der Stadt 40,2% einen dieser Typen aufwies, waren es auf dem Land nur 13,9%. Diese Tendenz lässt sich bei der vaginalen DNA nicht nachvollziehen.

5.5 Sexually Transmitted Infections (STI) und die vaginale Flora

Die Literatur weist auf erhebliche Unterschiede der Prävalenzen von STIs je nach Kollektiv hin. Die einzelnen Keime sollen im Folgenden diskutiert werden.

Chlamydien sind intrazelluläre Erreger und führen als *Chlamydia trachomatis* je nach Serotyp zu Trachom, Urethritis, Zervizitis und dem Lymphgranuloma inguinale. Gerade die Zervizitis verläuft klinisch häufig blande, kann aber unbehandelt zur Sterilität führen [124]. In dieser Untersuchung wurde nur bei fünf Frauen (0,6%) eine Chlamydieninfektion in der vaginalen Lavage nachgewiesen. Diese Prävalenz liegt deutlich unter der Häufigkeit vieler anderer Kollektive, die Prävalenzen von 1,5% in Mexico oder 4% in Kenia und teilweise über 30% in anderen Regionen der Welt aufweisen [78, 125-128].

Der Herpes genitalis wird durch Herpes simplex Typ 1 oder 2 (labial und genital) ausgelöst und führt zu schmerzhaften, juckenden Bläschen an Vulva und Vaginalschleimhaut [124]. Die Literatur zur Prävalenz von Herpes simplex Viren (HSV) konzentriert sich vor allem auf den serologischen Nachweis, der auch latente Infektionen detektiert. In dieser Studie konnten nur vaginale, also aktive HSV-Infektionen nachgewiesen werden. Ihre Prävalenz betrug 1,5% für HSV 2 und 0,4% für HSV 1. Bei diesen Frauen besteht das Risiko einer peripartalen Übertragung auf das Kind vor allem dann, wenn es sich um eine floride Erstinfektion handelt [124].

Die Gonorrhö, ausgelöst durch *Neisseria gonorrhoeae*, gehört zu den klassischen Geschlechtskrankheiten. 0,6% der Frauen in dieser Studie wiesen vaginale Gonokokken-Infektionen auf. Zwei Studien bei schwangeren Frauen in Khartum, im Nachbarland Sudan, errechneten ähnliche oder etwas höhere Prävalenzen von 1,8 und 2% [126, 129].

Trichomonas vaginalis und *Mycoplasma genitalium* können zu Infektionen der Urethra, Vagina und Zervix führen [130]. Studien ergaben ähnliche Prävalenzen wie bei dem hier beschriebenen Kollektiv (2,3 bzw. 1,0%) [125, 126, 128, 129, 131, 132].

Treponema pallidum, der Erreger der Syphilis, konnte erfreulicherweise bei keiner der Frauen nachgewiesen werden, obwohl sich im Nachbarland Sudan 7,3% *Treponema* positive schwangere Frauen fanden [129]. Eine Studie aus Kenia und Südafrika zeigte jedoch keinen einzigen Fall bei 110 und 109 untersuchten Frauen, was auf regionale Häufung der Fälle

schließen lässt [127]. Wegen der Gefahr einer connatalen Lues, mit weitreichenden Folgen für das Neugeborene, sollte eine Infektion in der Schwangerschaft frühzeitig erkannt und therapiert werden [124].

Die Prävalenzen der klassischen STIs (Chlamydien, Gonokokken, Treponema, HSV, Mykoplasmen und Trichomonaden) liegen im niedrig-normalen Bereich im Vergleich zu anderen Studien. Gerade Chlamydieninfektionen fanden sich seltener als in anderen Populationen, obwohl nur wenige Frauen die Verwendung von Kondomen bestätigten. Auch die Anzahl der Gonokokkeninfektionen war gering. Für die niedrige Prävalenz gibt es eine Reihe von Begründungen. Zum einen wurden Frauen mit Sterilität aufgrund von Chlamydien- und geringerem Maße auch Gonokokkeninfektionen nicht in diese Studie eingeschlossen und nur schwangere (fruchtbare) Frauen erfasst. Außerdem wurden Frauen mit vaginaler Symptomatik ausgeschlossen. Somit kann eine etwas geringere Prävalenz vor vorneherein angenommen werden. Dennoch sollte auch eine niedrigere Promiskuität in Betracht gezogen werden. Es handelt sich größtenteils um junge verheiratete Frauen, die aufgrund ihrer Situation schon weniger wechselnde Geschlechtspartner haben sollten. Zusätzlich ist Äthiopien ein sehr religiöses und traditionelles Land, wo eine ausgeprägte soziale Kontrolle unter Umständen zu einer niedrigeren Promiskuität führen könnte.

Da diese STI-Screening-Methode (STIP) bislang nur mit Abstrichen und nicht an Hand einer vaginalen Lavage durchgeführt wurde, kommt auch eine zu niedrig errechnete Prävalenz aufgrund des nicht ausreichend validierten Verfahrens in Frage. Der zervikale Abstrich enthält höchstwahrscheinlich mehr zervikale Zellen, als die vaginale Lavage, was zur Unterschätzung der eigentlichen Prävalenz führen könnte. Vaginale Keime (Erreger oder normale Flora) zeigten normale Prävalenzen. Ob die Methode für zervikale Keime (Chlamydien, Gonokokken) geeignet ist, muss weiter evaluiert werden.

Vaginal können Candida-Spezies häufig nachgewiesen werden, ohne dass sie Symptome verursachen [124]. 38,6% der untersuchten Frauen hatten vermehrten vaginalen Pilz, größtenteils *Candida albicans* (28,5% der Frauen). Beide Studien an Schwangeren aus Khartoum zeigten niedrigere Prävalenzen von 16,6 und 13,9% *Candida albicans* [126, 129]. Die hier verwendete Methode weist für die Detektion von Candida eine Sensitivität von 98,6% und eine Spezifität von 87,4% auf [91]. Dies könnte zu einer leichten Überschätzung der tatsächlichen Prävalenz führen. Generell sollte aber bedacht werden, dass viele der detektierten Candidainfektionen im subklinischen Bereich liegen.

Die Bakterielle Vaginose zeichnet sich durch ein gestörtes vaginales Milieu aus, bei dem es zur starken Reduktion von Laktobazillen mit konsekutiv erhöhtem pH-Wert und Besiedlung der Vagina mit einer Mischflora kommt. Hier spielen vor allem *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium*

vaginae und *Mycoplasma hominis* eine Rolle, die jedoch auch in der normalen vaginalen Flora vorkommen können [124]. *Gardnerella vaginalis* fanden sich in 38,6%, *Atopobium vaginae* in 28% und *Mycoplasma hominis* in 10% der Frauen. Die Angaben zu *Gardnerella* Infektionen in anderen Studien reichen von 12 bis 88%, so dass ein Vergleich schwierig ist [126, 128, 133]. Seit einigen Jahren gilt auch *Atopobium vaginae* als Erreger der Bakteriellen Vaginose, Hinweise zur Prävalenz bei jungen gesunden Frauen liegen nicht vor [134]. Die Prävalenz von 10% für *Mycoplasma hominis* ist vergleichbar mit den 13,8% der Schwangeren aus dem Nachbarland Sudan [126]. Mittels dieser Keime, bei stark erniedrigten Laktobazillen, wurde ein Score für die Bakterielle Vaginose (BV-Score) errechnet [91]. Bei einem Score von zwei oder mehr liegt der Verdacht nahe, dass eine Bakterielle Vaginose tatsächlich vorliegt. Dies war bei 24,3% der Frauen der Fall. Eine äthiopische Studie aus 2014 gab für die Bakterielle Vaginose (mittels Nugent-Score) eine Prävalenz von 19,4% bei schwangeren Frauen an [135]. Eine weltweite Metaanalyse schloss 12 Studien ein und errechnete eine Prävalenz von 31,2%, die klinisch mit dem Nugent-Score und Amsel-Kriterien gestellt wurde [136].

Die angewandte Methode reicht nicht als diagnostisches Mittel aus, da zu einer Diagnosestellung eine klinische Beurteilung gehört. Laborchemische Daten eignen sich jedoch als Screening-Methode und geben näherungsweise die tatsächliche Prävalenz der Bakteriellen Vaginose in der Studienpopulation wieder.

Generell eignet sich diese Methode bei schwangeren Frauen, da sie atraumatisch ist und gleichzeitig mit einer Untersuchung viele Keime nachweist. Eine Bakterielle Vaginose in der Schwangerschaft kann zu Frühgeburtlichkeit führen und sollte behandelt werden. Gerade in Äthiopien, wie in vielen Teilen Afrikas, kommen die Frauen erst in der späten Schwangerschaft zur Schwangerenvorsorge. Zu diesem Zeitpunkt ist kein zervikaler Abstrich mehr möglich. Eine vaginale Lavage mit STI Profiling könnte hier eine gute Alternative bieten.

Da es in der Literatur Hinweise auf eine Korrelation zwischen STIs und HPV gibt, wurde eine Signifikanzberechnung mittels Fischer Exact Test für HPV positive und Hochrisiko-HPV positive Frauen durchgeführt. Die Korrelation von *Chlamydia trachomatis* und HPV wird in vielen Studien beschrieben und konnte auch in dieser Studie bestätigt werden [33, 78, 125, 137]. Alle Frauen mit *Chlamydia trachomatis* waren HPV-DNA positiv (OR nicht berechenbar). Für die Korrelation zwischen Chlamydien und hrHPV ergab sich eine OR von 14,43 (95%-KI: 1,6-129,95).

Auch für Herpes simplex Typ 2 Viren (genitaler Typ) gibt es Hinweise auf eine Korrelation mit HPV-Infektionen bis hin zum Zervixkarzinom [79, 80]. Die hier vorliegenden Daten bestätigen diesen Zusammenhang. Die Korrelation zwischen HSV 2 und HPV, beziehungsweise hrHPV, ist mit OR von 10,53 (95%-KI: 2,29-48,41) und 7,35 (95%-KI: 2,19-24,72) statistisch signifikant. Für HSV 1 (oralen Typ) zeigte sich keine Korrelation.

Die Vermutung liegt nahe, dass der gleiche Transmissionsweg von HPV und STIs für diese Korrelation verantwortlich ist, was jedoch nicht die beobachtete Persistenz von hrHPV und die vermehrt auftretenden Zervixkarzinomen bei diesen Infektionen erklärt. Hierfür sprechen eher Milieuveränderungen und eine Zellschädigung durch STIs, die eine Infektion mit HPV und später dessen Persistenz begünstigen [79, 81, 137-139]. Auf die Persistenz der vorliegenden Infektionen kann in dieser Studie aufgrund mangelnder Follow-ups kein Rückschluss gezogen werden.

Korrelationen zwischen HPV und anderen typischen Geschlechtskrankheiten wie Gonokokken, Trichomonaden und Mykoplasmen konnten bei dieser Untersuchung nicht festgestellt werden. Sie korrelieren in der Literatur auch eher selten mit HPV [33, 125, 131, 140]. Die Korrelation zwischen STI-Positivität (STI pos.) und HPV wird somit durch die Korrelation zwischen Chlamydien bzw. HSV 2 und HPV bestimmt.

Es gibt Hinweise auf eine Korrelation von *Ureaplasma urealyticum* und HPV [140]. Eine Studie beschrieb diesen Zusammenhang nur bei *Ureaplasma urealyticum*-Infektionen mit hoher Keimzahl [125]. Die Kausalität scheint jedoch unklar. In dieser Studie konnte keine Korrelation dargestellt werden, es wurden jedoch auch keine Keimzahlen verglichen.

Wie erwartet zeigte keiner der *Candida* Typen eine Korrelation mit HPV-Infektionen [125].

Die vorliegenden Daten weisen nicht auf eine Reduktion der Laktobazillen in den HPV oder hrHPV positiven Frauen hin. *Lactobacillus iners* kam bei HPV positiven Frauen sogar etwas häufiger vor. Dies kann ein zufälliger Befund in der Kohorte sein. Ursachen konnten in dieser Studie nicht eruiert werden.

Ob eine Bakterielle Vaginose eine HPV-Infektion begünstigt ist umstritten [33, 131, 136]. Diese Studie zeigte signifikant höhere Prävalenzen von *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* und *Mycoplasma hominis* bei HPV und hrHPV positiven Frauen. Obwohl sie als Ursache für die Bakterielle Vaginose gelten und in Kombination in den BV-Score einfließen, korrelierte ein BV-Score ≥ 2 nicht signifikant mit einer HPV- oder hrHPV-Infektion. Dies spricht für eine häufig vorkommende eher harmlose Besiedelung der Vagina mit diesen Keimen, vor allem bei HPV positiven Frauen. Sie geht meist mit niedriger Keimzahl einher und zeigt keine Störung der Laktobazillen [124].

5.6 HPV-Screening und -Impfung

Durch die Entwicklung von HPV-Impfung und -Screening kann und wird sich die Zahl der präinvasiven Läsionen und der invasiven Zervixkarzinome dramatisch zum Vorteil der Frauen verbessern [141]. Dies gilt vor allem für Länder ohne etablierte und zugängliche Vorsorge.

Für die Frage, ob die Impfung (mit den bekannten Impfstoffen) in Äthiopien sinnvoll wäre, sind vor allem Daten aus Studien zu HPV bei Zervixkarzinomen wichtig und nicht die absolute Zahl der hrHPV-Infektionen in der Population. Es sollten vor allem die HPV-Typen verhindert werden, die sich bei den meisten Krebspatientinnen finden, wobei weniger kanzerogene Typen zunächst vernachlässigt werden. Vorhandene Studien zu HPV bei zervikaler Dysplasie und Zervixkarzinomen in Äthiopien weisen als häufigsten Typ HPV 16 auf, gefolgt von HPV 18, 31, 45, 52 und 58 [75-77]. Diese Typen kommen also nicht nur bei symptomlosen Frauen vor, sondern sind auch die häufigsten Typen bei nachgewiesenen Karzinomen.

Während in Ländern mit hohem Einkommen die HPV-Impfung als Ergänzung zur bestehenden Vorsorgeuntersuchung angesehen wird, könnte sie in Ländern mit niedrigem oder mittlerem Einkommen, aber hohen Zervixkarzinomraten, zu einer deutlichen Eindämmung der Erkrankung von 70-90% führen [37-39]. Die Wirksamkeit der bi- und quadrivalenten HPV-Impfung auf zervikale HPV 16 und 18 assoziierte Veränderung im Sinne einer CIN I-III (Cervical Intraepithelial Neoplasia) wird in mehreren Studien bestätigt. Auch eine Kreuzimmunität für andere Hochrisiko-Typen wird angenommen [37, 141, 142]. Der neuentwickelte nonavalente Impfstoff, der neben HPV 16 und 18 auch die Typen 31, 33, 45, 52, 58 abdeckt, zeigt in Studien eine ähnliche immunologische Wirkung wie die anderen Impfstoffe. Er bewirkt eine Reduktion zervikaler und vulvärer Veränderungen, die in Zusammenhang mit diesen neun HPV-Typen stehen [39-41]. Trotz kostenintensiver Impfung könnten langfristig durch das Wegfallen von Karzinomfällen Kosten eingespart werden [143-146]. Diskutiert wird die Gabe von zwei statt drei Dosen des Impfstoffes als kostengünstigere aber nicht weniger effektive Option, gerade für Länder mit niedrigerem Einkommen [144]. Auch gibt es Hinweise, dass sich eine Nachholimpfung vor dem 20. Lebensjahr auszahlen könnte [147]. Studien aus zehn Subsahara-Ländern lassen eine hohe Akzeptanz der Impfung bei jungen Frauen und ihren Familien erwarten [148]. Auch ein HPV-Screening ein- oder zweimal im Leben einer Frau kann eine kosteneffektivere und weitaus weniger aufwendige Alternative zum VIA-Screening mit konsekutiver Kryotherapie sein, die regelmäßig wiederholt werden muss [53, 54, 70, 149]. Angesichts der neugewonnenen Daten zur HPV-Prävalenz aus dieser Arbeit und in Kombination mit den Studien zu HPV bei Karzinompatientinnen scheint die Einführung einer bi-, quadri- oder nonavalenten Impfung für Mädchen in Äthiopien ausgesprochen empfehlenswert.

Herausforderungen bleiben die Finanzierung der Impf- und HPV-Screening-Projekte, die Unwissenheit in der Bevölkerung dem Thema gegenüber und die Kühlketten-Kapazität [71, 148, 150].

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Studie zeigte eine hohe Prävalenz von HPV und HPV Hochrisiko-Typen bei schwangeren äthiopischen Frauen. Frauen unter städtischem Einfluss zeigten deutlich höhere HPV-Prävalenzen als Frauen aus ländlichen Regionen. Dieser Einfluss korrelierte in der multivariaten Analyse signifikant mit einer HPV-Infektion (OR 2,36 (95%-KI: 1,47-3,79)). Auch junges Alter der Frau bei erstem Geschlechtsverkehr zeigte eine signifikante Risikoerhöhung (OR 1,86 (95%-KI: 1,02-3,41)). Die Infektion mit Erregern klassischer Geschlechtskrankheiten wie Chlamydien, Herpes simplex Typ 2, Gonokokken, Trichomonaden, Mykoplasmen und *Treponema pallidum* fanden sich nicht sehr häufig (<6,2%). Infektionen mit Chlamydien oder Herpes simplex Typ 2 korrelierten signifikant mit einer HPV-Positivität (OR für HSV 2: 10,53 (95%-KI: 2,29-48,41), für Chlamydien nicht berechenbar (siehe 4.6.2)).

Trotz niedriger HIV-Raten in Äthiopien ist die HPV-Prävalenz bei schwangeren Frauen hoch. Aufgrund des höheren städtischen Anteils in der untersuchten Population überschätzt diese Studie möglicherweise die tatsächliche Prävalenz in der Normalbevölkerung etwas. Deutliche Unterschiede zwischen städtischen und sehr ländlichen Gebieten konnten für vaginale Infektionen und Antikörper in der Serologie festgestellt werden, wobei sich auf dem Land zwar insgesamt weniger Infektionen zeigten, diese jedoch im Schnitt schwerer zu sein schienen. Somit scheint eine Intervention sowohl in Städten als auch auf dem Land sinnvoll.

Diese und andere Studien weltweit zeigen, dass jeder HPV-Typ unterschiedliche Prävalenzen bei den vaginalen Infektionen, Viruslasten und in der Serologie aufweisen. Im Vergleich zu Studien mit Karzinompatientinnen wird deutlich, dass sie jeweils auch ein unterschiedliches onkogenes Verhalten zeigen. Auch in Äthiopien zeigt sich eine ähnliche Verteilung, wie in anderen Ländern, so dass eine bi-, quadri- oder nonavalente Impfung gegen diese Typen gerechtfertigt und erfolgversprechend ist.

Auch in dieser Studie zeigte sich eine Korrelation zwischen HPV und anderen vaginalen Keimen, auch wenn es nur für wenige dieser Korrelationen Hinweise auf die Kausalität gibt. Die insgesamt niedrigen Prävalenzen der klassischen STI stehen im Kontrast zu der hohen HPV-Prävalenz, obwohl sie beide überwiegend durch Geschlechtsverkehr übertragen werden. Dies lässt vermuten, dass einige der HPV-Infektionen andere horizontale Transmissionswege nutzen und über Hände, Flächen und unhygienische sanitäre Anlagen (Schmierinfektionen) übertragen werden [151, 152]. Die STI-Rate ist erwartungsgemäß etwas niedriger, als in

anderen Ländern, da Äthiopien ein sehr traditionelles und religiöses Land ist, in dem uneheliche Kinder weniger akzeptiert werden und eine starke soziale Kontrolle die Promiskuität unter Umständen etwas reduziert. Zudem liegt die Vermutung nahe, dass nicht alle Keime ausreichend mit dieser kombinierten Methode (Lavage + STIP) nachgewiesen werden können und somit gerade die Prävalenzen der zervikalen Erreger, wie Chlamydien und Gonokokken, tatsächlich höher liegen.

Auch wenn diese Studie anteilig nicht ganz so viele ländliche Frauen erfasst, wie es laut Zensus 2007 in Äthiopien gibt, repräsentiert sie doch einen großen Teil der Bevölkerung, die durch Screening- und Impf-Kampagnen erreicht werden könnte, also Frauen mit Zugang zu regionalen Gesundheitsstationen. Bei einer solchen Kampagne sollte neben Screening und Impfung auch die Gesundheitsbildung im Vordergrund stehen (IEC-Kampagnen: Information, Education and Communication). So könnte man die hohen HPV-Prävalenzen in Äthiopien reduzieren, über Symptome aufklären und vermeiden, dass sich Frauen mit präinvasiven Läsionen und früh-invasiven Zervixkarzinomen spät oder nie vorstellen und an ihrer Erkrankung sterben. Neben der Vermeidung der onkologischen Morbidität und Mortalität, ließe sich auch die gynäkologische infektiologische Morbidität (STI, Condylomata Acuminata etc.) der überwiegend jungen Bevölkerung deutlich verringern.

Angesichts der vielfältigen Herausforderungen wie der Finanzierung eines Screening Programms und einer HPV-Impfung, der Sicherung von Kühlketten und nicht zuletzt der Ausbildung von Personal, ist es für ein Land wie Äthiopien noch ein weiter Weg bis zur Lösung dieses Problems.

Der frühere FIGO Präsident Fathalla hat 1994 in einer erinnerungswürdigen Stellungnahme die Situation der Frauen in der Dritten Welt und der mit ihren reproduktiven Organen verbundenen Mortalität abgegeben:

„Women are not dying because of diseases we cannot treat. They are dying because societies have yet to make the decision that their lives are worth saving.“

„Frauen sterben nicht an Krankheiten, die wir nicht behandeln können. Sie sterben, weil sich immer noch viele Gesellschaften erst wirklich entscheiden müssen, dass ihre Leben es wert sind gerettet zu werden.“

Zitat von Mahmoud Fathalla, Präsident der FIGO, World Congress 1997, Kopenhagen

Das gilt auch für den Umgang mit einem der häufigsten Karzinome der Frau in Entwicklungsländern, dem Zervixkarzinom. Es müssen politische Weichen gestellt werden, welche die Frauengesundheit in den Vordergrund nationaler Programme stellt. Dies könnte vielen tausend Frauen jährlich den Tod am Zervixkarzinom ersparen.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Globocan (IARC) 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 <http://globocan.iarc.fr> (abgerufen am 17.02.2017)
- 2 Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Tafur L, Izarzugaza I, Gili M, Viladiu P, Navarro C, Martos C, Ascunce N, et al. (1992) The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population-based case-control study in Colombia and Spain. *Int J Cancer* 52: 743-749
- 3 Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV (2002) The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 55: 244-265
- 4 Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen H (1984) A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J* 3: 1151-1157
- 5 Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H (1983) A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80: 3812-3815
- 6 Gissmann L, Boshart M, Durst M, Ikenberg H, Wagner D, zur Hausen H (1984) Presence of human papillomavirus in genital tumors. *J Invest Dermatol* 83: 26s-28s
- 7 Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189: 12-19
- 8 IARC Monographs <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol90/index.php> (abgerufen am 17.02.2017)
- 9 Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M, Franceschi S (2012) Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine* 30 Suppl 5: F12-23
- 10 Grulich AE, Jin F, Conway EL, Stein AN, Hocking J (2010) Cancers attributable to human papillomavirus infection. *Sex Health* 7: 244-252
- 11 Stanley MA (2012) Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clin Microbiol Rev* 25: 215-222
- 12 Modis Y, Trus BL, Harrison SC (2002) <http://www.virology.wisc.edu/virusworld/images/hpv-yellow-orange.jpg> (abgerufen am 17.02.2017)
- 13 Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, Lowy DR, Schiller JT (1992) Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 12180-12184
- 14 Hagensee ME, Yaegashi N, Galloway DA (1993) Self-assembly of human papillomavirus type 1 capsids by expression of the L1 protein alone or by coexpression of the L1 and L2 capsid proteins. *J Virol* 67: 315-322
- 15 Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, zur Hausen H (1985) Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 314: 111-114
- 16 Lechner MS, Mack DH, Finicle AB, Crook T, Vousden KH, Laimins LA (1992) Human papillomavirus E6 proteins bind p53 in vivo and abrogate p53-mediated repression of transcription. *EMBO J* 11: 3045-3052

- 17 Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ, International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study G (2003) Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 348: 518-527
- 18 Jaisamrarn U, Castellsague X, Garland SM, Naud P, Palmroth J, Del Rosario-Raymundo MR, Wheeler CM, Salmeron J, Chow SN, Apter D, Teixeira JC, Skinner SR, Hedrick J, Szarewski A, Romanowski B, Aoki FY, Schwarz TF, Poppe WA, Bosch FX, de Carvalho NS, Germar MJ, Peters K, Paavonen J, Bozonnet MC, Descamps D, Struyf F, Dubin GO, Rosillon D, Baril L, Group HPS (2013) Natural history of progression of HPV infection to cervical lesion or clearance: analysis of the control arm of the large, randomised PATRICIA study. *PLoS One* 8: e79260
- 19 Schmitt M, Depuydt C, Benoy I, Bogers J, Antoine J, Arbyn M, Pawlita M, Group VS (2013) Prevalence and viral load of 51 genital human papillomavirus types and three subtypes. *Int J Cancer* 132: 2395-2403
- 20 Schmitt M, Depuydt C, Benoy I, Bogers J, Antoine J, Pawlita M, Arbyn M, group Vs (2013) Viral load of high-risk human papillomaviruses as reliable clinical predictor for the presence of cervical lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 22: 406-414
- 21 Josefsson AM, Magnusson PK, Ylitalo N, Sorensen P, Qwarforth-Tubbin P, Andersen PK, Melbye M, Adami HO, Gyllensten UB (2000) Viral load of human papilloma virus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet* 355: 2189-2193
- 22 Ball SL, Winder DM, Vaughan K, Hanna N, Levy J, Sterling JC, Stanley MA, Goon PK (2011) Analyses of human papillomavirus genotypes and viral loads in anogenital warts. *J Med Virol* 83: 1345-1350
- 23 Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD (1998) Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 338: 423-428
- 24 Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA (2003) Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 157: 218-226
- 25 Syrjanen K, Hakama M, Saarikoski S, Vayrynen M, Yliskoski M, Syrjanen S, Kataja V, Castren O (1990) Prevalence, incidence, and estimated life-time risk of cervical human papillomavirus infections in a nonselected Finnish female population. *Sex Transm Dis* 17: 15-19
- 26 Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Lewis R, Romney S (1995) Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 87: 1365-1371
- 27 Karlsson R, Jonsson M, Edlund K, Evander M, Gustavsson A, Boden E, Rylander E, Wadell G (1995) Lifetime number of partners as the only independent risk factor for human papillomavirus infection: a population-based study. *Sex Transm Dis* 22: 119-127
- 28 Tsai HT, Tsai YM, Yang SF, Wu KY, Chuang HY, Wu TN, Ho CK, Lin CC, Kuo YS, Wu MT (2007) Lifetime cigarette smoke and second-hand smoke and cervical intraepithelial neoplasm--a community-based case-control study. *Gynecol Oncol* 105: 181-188
- 29 Rosa MI, Fachel JM, Rosa DD, Medeiros LR, Igansi CN, Bozzetti MC (2008) Persistence and clearance of human papillomavirus infection: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol* 199: 617 e611-617
- 30 Luhn P, Walker J, Schiffman M, Zuna RE, Dunn ST, Gold MA, Smith K, Mathews C, Allen RA, Zhang R, Wang S, Wentzensen N (2013) The role of co-factors in the

- progression from human papillomavirus infection to cervical cancer. *Gynecol Oncol* 128: 265-270
- 31 Denny LA, Franceschi S, de Sanjose S, Heard I, Moscicki AB, Palefsky J (2012) Human papillomavirus, human immunodeficiency virus and immunosuppression. *Vaccine* 30 Suppl 5: F168-174
- 32 Lam JU, Rebolj M, Dugue PA, Bonde J, von Euler-Chelpin M, Lynge E (2014) Condom use in prevention of Human Papillomavirus infections and cervical neoplasia: systematic review of longitudinal studies. *J Med Screen* 21: 38-50
- 33 Oakeshott P, Aghaizu A, Reid F, Howell-Jones R, Hay PE, Sadiq ST, Lacey CJ, Beddows S, Soldan K (2012) Frequency and risk factors for prevalent, incident, and persistent genital carcinogenic human papillomavirus infection in sexually active women: community based cohort study. *BMJ* 344: e4168
- 34 Ho GY, Studentsov YY, Bierman R, Burk RD (2004) Natural history of human papillomavirus type 16 virus-like particle antibodies in young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13: 110-116
- 35 Stanley MA (2009) Immune responses to human papilloma viruses. *Indian J Med Res* 130: 266-276
- 36 Palmroth J, Namujju P, Simen-Kapeu A, Kataja V, Surcel HM, Tuppurainen M, Yliskoski M, Syrjanen K, Lehtinen M (2010) Natural seroconversion to high-risk human papillomaviruses (hrHPVs) is not protective against related HPV genotypes. *Scand J Infect Dis* 42: 379-384
- 37 Van Kriekinge G, Castellsague X, Cibula D, Demarteau N (2014) Estimation of the potential overall impact of human papillomavirus vaccination on cervical cancer cases and deaths. *Vaccine* 32: 733-739
- 38 WHO: HPV Vaccine Backgroundpaper (2008)
http://www.who.int/immunization/documents/HPVBGpaper_final_03_04_2009.pdf
 (abgerufen am 14.03.2017)
- 39 Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, Bouchard C, Mao C, Mehlsen J, Moreira ED, Jr., Ngan Y, Petersen LK, Lazcano-Ponce E, Pitisuttithum P, Restrepo JA, Stuart G, Woelber L, Yang YC, Cuzick J, Garland SM, Huh W, Kjaer SK, Bautista OM, Chan IS, Chen J, Gesser R, Moeller E, Ritter M, Vuocolo S, Luxembourg A, Broad Spectrum HPVVS (2015) A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N Engl J Med* 372: 711-723
- 40 Van Damme P, Olsson SE, Block S, Castellsague X, Gray GE, Herrera T, Huang LM, Kim DS, Pitisuttithum P, Chen J, Christiano S, Maansson R, Moeller E, Sun X, Vuocolo S, Luxembourg A (2015) Immunogenicity and Safety of a 9-Valent HPV Vaccine. *Pediatrics* 136: e28-39
- 41 Vesikari T, Brodzski N, van Damme P, Diez-Domingo J, Icardi G, Petersen LK, Tran C, Thomas S, Luxembourg A, Baudin M (2015) A Randomized, Double-Blind, Phase III Study of the Immunogenicity and Safety of a 9-Valent Human Papillomavirus L1 Virus-Like Particle Vaccine (V503) Versus Gardasil(R) in 9-15-Year-Old Girls. *Pediatr Infect Dis J* 34: 992-998
- 42 Zentrum für Krebsregisterdaten des RKI (Robert Koch Institut)
http://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2015/kid_2015_c53_gebaermutterhals.pdf?__blob=publicationFile
 (abgerufen am 17.02.2017)
- 43 Vaccarella S, Lortet-Tieulent J, Plummer M, Franceschi S, Bray F (2013) Worldwide trends in cervical cancer incidence: Impact of screening against changes in disease risk factors. *Eur J Cancer*:

- 44 Bruni L, Diaz M, Castellsague X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjose S (2010) Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis* 202: 1789-1799
- 45 WHO (2010) Human Papillomavirus and related cancers, Germany. Summary Report Update.
- 46 Iftner T, Eberle S, Iftner A, Holz B, Banik N, Quint W, Straube AN (2010) Prevalence of low-risk and high-risk types of human papillomavirus and other risk factors for HPV infection in Germany within different age groups in women up to 30 years of age: an epidemiological observational study. *J Med Virol* 82: 1928-1939
- 47 Impfkalender der STIKO (Ständige Impfkommission) 2016
<https://http://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/STIKO/Empfehlungen/Aktuelles/Impfkalender.html> (abgerufen am 17.02.2017)
- 48 Steben M, Jeronimo J, Wittet S, Lamontagne DS, Ogilvie G, Jensen C, Smith J, Franceschi S (2012) Upgrading public health programs for human papillomavirus prevention and control is possible in low- and middle-income countries. *Vaccine* 30 Suppl 5: F183-191
- 49 Anorlu RI, Orakwue CO, Oyeneyin L, Abudu OO (2004) Late presentation of patients with cervical cancer to a tertiary hospital in Lagos: what is responsible? *Eur J Gynaecol Oncol* 25: 729-732
- 50 Mwaka AD, Okello ES, Wabinga H, Walter FM (2015) Symptomatic presentation with cervical cancer in Uganda: a qualitative study assessing the pathways to diagnosis in a low-income country. *BMC Womens Health* 15: 15
- 51 Denny L (2015) Control of cancer of the cervix in low- and middle-income countries. *Ann Surg Oncol* 22: 728-733
- 52 Tadesse SK (2015) Socio-economic and cultural vulnerabilities to cervical cancer and challenges faced by patients attending care at Tikur Anbessa Hospital: a cross sectional and qualitative study. *BMC Womens Health* 15: 75
- 53 Bosch FX, Tsu V, Vorsters A, Van Damme P, Kane MA (2012) Reframing cervical cancer prevention. Expanding the field towards prevention of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine* 30 Suppl 5: F1-11
- 54 Paul P, Winkler JL, Bartolini RM, Penny ME, Huong TT, Nga le T, Kumakech E, Mugisha E, Jeronimo J (2013) Screen-and-treat approach to cervical cancer prevention using visual inspection with acetic acid and cryotherapy: experiences, perceptions, and beliefs from demonstration projects in Peru, Uganda, and Vietnam. *Oncologist* 18: 1278-1284
- 55 Sankaranarayanan R, Anorlu R, Sangwa-Lugoma G, Denny LA (2013) Infrastructure requirements for human papillomavirus vaccination and cervical cancer screening in sub-Saharan Africa. *Vaccine* 31 Suppl 5: F47-52
- 56 Homepage der GAVI Vaccine Alliance <http://www.gavi.org> (abgerufen am 18.02.2017)
- 57 CIA The World Factbook: Ethiopia <https://http://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/et.html> (abgerufen am 18.02.2017)
- 58 Homepage der Bundeszentrale für politische Bildung (BPB) <http://www.bpb.de> (abgerufen am 18.02.2017)
- 59 Human Development Index (HDI) 2014
http://hdr.undp.org/sites/default/files/hdr_2015_statistical_annex.pdf (abgerufen am 14.03.2017)

- 60 CSA Population and Housing and Census Report 2007
https://unstats.un.org/unsd/statcom/statcom_08_events/special%20events/population_census/docs/presentation%20at%20Stat%20Com-UN%20Samia1.pdf (abgerufen am 18.02.2017)
- 61 Demographic Health Survey (DHS) Ethiopia 2011
<https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR255/FR255.pdf> (abgerufen am 14.02.2017)
- 62 Banteyerga H (2011) Ethiopia's health extension program: improving health through community involvement. *MEDICC Rev* 13: 46-49
- 63 Homepage der World Bank <http://data.worldbank.org> (abgerufen am 18.02.2017)
- 64 Birhanu Z, Abdissa A, Belachew T, Deribew A, Segni H, Tsu V, Mulholland K, Russell FM (2012) Health seeking behavior for cervical cancer in Ethiopia: a qualitative study. *Int J Equity Health* 11: 83
- 65 Getahun F, Mazengia F, Abuhay M, Birhanu Z (2013) Comprehensive knowledge about cervical cancer is low among women in Northwest Ethiopia. *BMC Cancer* 13: 2
- 66 Terefe YG, A (2008) Knowledge, attitude and practice of screening for carcinoma of the cervix among reproductive health clients at three teaching hospitals, Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiopian Journal of Reproductive Health* 2:
- 67 WHO (2010) Human Papillomavirus and related cancers, Ethiopia. Summary Report Update.
- 68 Ministry of Health, Federal Democratic Republic of Ethiopia: National Strategic Action Plan (NSAP) for Prevention & Control of Non-Communicable Diseases in Ethiopia 2014-2016 [http://www.iccp-portal.org/sites/default/files/plans/ETH_B3_National Strategic Action Plan \(NSAP\) for Prevention and Control of Non-Communicable Diseases - Final.pdf](http://www.iccp-portal.org/sites/default/files/plans/ETH_B3_National Strategic Action Plan (NSAP) for Prevention and Control of Non-Communicable Diseases - Final.pdf) (abgerufen am 14.03.2017)
- 69 Addis Tesfa (Pathfinder International / Ethiopia): Combating Cervical Cancer in Ethiopia http://www2.pathfinder.org/site/DocServer/Ethiopia_CC_launch_brief.pdf (abgerufen am 18.02.2017)
- 70 Denny L, Kuhn L, De Souza M, Pollack AE, Dupree W, Wright TC, Jr. (2005) Screen-and-treat approaches for cervical cancer prevention in low-resource settings: a randomized controlled trial. *JAMA* 294: 2173-2181
- 71 Rogie B, Berhane Y, Bisrat F (2013) Assessment of cold chain status for immunization in central Ethiopia. *Ethiop Med J* 51 Suppl 1: 21-29
- 72 GAVI Vaccine Alliance: Ethiopia <http://www.gavi.org/country/ethiopia/> (abgerufen am 18.02.2017)
- 73 Ruland R, Prugger C, Schiffer R, Regidor M, Lelle RJ (2006) Prevalence of human papilloma virus infection in women in rural Ethiopia. *Eur J Epidemiol* 21: 727-729
- 74 Leyh-Bannurah SR, Prugger C, de Koning MN, Goette H, Lelle RJ (2014) Cervical human papillomavirus prevalence and genotype distribution among hybrid capture 2 positive women 15 to 64 years of age in the Gurage zone, rural Ethiopia. *Infect Agent Cancer* 9: 33
- 75 Bekele A, Baay M, Mekonnen Z, Suleman S, Chatterjee S (2010) Human papillomavirus type distribution among women with cervical pathology - a study over 4 years at Jimma Hospital, southwest Ethiopia. *Trop Med Int Health* 15: 890-893
- 76 Fanta BE (2005) The distribution of Human Papilloma Virus infection in women with cervical histological abnormalities from an area with high incidence of cervical cancer. *Ethiop Med J* 43: 151-158

- 77 Abate E, Aseffa A, El-Tayeb M, El-Hassan I, Yamuah L, Mihret W, Bekele L, Ashenafi S, El-Dawi N, Belayneh M, El-Hassan A, Engers H (2013) Genotyping of human papillomavirus in paraffin embedded cervical tissue samples from women in Ethiopia and the Sudan. *J Med Virol* 85: 282-287
- 78 Silva J, Cerqueira F, Ribeiro J, Sousa H, Osorio T, Medeiros R (2013) Is Chlamydia trachomatis related to human papillomavirus infection in young women of southern European population? A self-sampling study. *Arch Gynecol Obstet* 288: 627-633
- 79 Skeate JG, Porras TB, Woodham AW, Jang JK, Taylor JR, Brand HE, Kelly TJ, Jung JU, Da Silva DM, Yuan W, Kast WM (2015) Herpes Simplex Virus downregulation of secretory leukocyte protease inhibitor enhances Human Papillomavirus type 16 infection. *J Gen Virol*:
- 80 Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Munoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, Castellsague X, Meijer CJ, Van den Brule AJ, Franceschi S, Ashley R, International Agency for Research on Cancer Multicentric Cervical Cancer Study G (2002) Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 94: 1604-1613
- 81 Smith JS, Munoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, Bosch FX, Walboomers JM, Peeling RW (2002) Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 185: 324-331
- 82 Waterboer T, Dondog B, Michael KM, Michel A, Schmitt M, Vaccarella S, Franceschi S, Clifford G, Pawlita M (2012) Dried blood spot samples for seroepidemiology of infections with human papillomaviruses, Helicobacter pylori, Hepatitis C Virus, and JC Virus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 21: 287-293
- 83 Waterboer T, Sehr P, Michael KM, Franceschi S, Nieland JD, Joos TO, Templin MF, Pawlita M (2005) Multiplex human papillomavirus serology based on in situ-purified glutathione s-transferase fusion proteins. *Clin Chem* 51: 1845-1853
- 84 Wikipedia: Äthiopien <https://de.wikipedia.org/wiki/Äthiopien> (abgerufen am 17.02.2017)
- 85 Phone Book of the World <http://phonebookoftheworld.com/ethiopia/map/> (abgerufen am 17.02.2017)
- 86 Dondog B, Clifford GM, Vaccarella S, Waterboer T, Unurjargal D, Avirmed D, Enkhtuya S, Kommos F, Wentzensen N, Snijders PJ, Meijer CJ, Franceschi S, Pawlita M (2008) Human papillomavirus infection in Ulaanbaatar, Mongolia: a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17: 1731-1738
- 87 Delere Y, Schuster M, Vartazarowa E, Hansel T, Hagemann I, Borchardt S, Perlitz H, Schneider A, Reiter S, Kaufmann AM (2011) Cervicovaginal self-sampling is a reliable method for determination of prevalence of human papillomavirus genotypes in women aged 20 to 30 years. *J Clin Microbiol* 49: 3519-3522
- 88 Snijders PJ, van den Brule AJ, Jacobs MV, Pol RP, Meijer CJ (2005) HPV DNA detection and typing in cervical scrapes. *Methods Mol Med* 119: 101-114
- 89 Qu W, Jiang G, Cruz Y, Chang CJ, Ho GY, Klein RS, Burk RD (1997) PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primer systems. *J Clin Microbiol* 35: 1304-1310
- 90 Schmitt M, Dondog B, Waterboer T, Pawlita M (2008) Homogeneous amplification of genital human alpha papillomaviruses by PCR using novel broad-spectrum GP5+ and GP6+ primers. *J Clin Microbiol* 46: 1050-1059

- 91 Schmitt M, Depuydt C, Stalpaert M, Pawlita M (2014) Bead-based multiplex sexually transmitted infection profiling. *J Infect* 69: 123-133
- 92 Acheter ma Pilule Homepage <http://www.acheter-ma-pilule.com/blog/sexualite/frottis-maison-pour-ou-contre.html> (abgerufen am 17.02.2017)
- 93 Tritechforensics Homepage
http://tritechforensics.com/uploaded_files/images/products/b_a045d843d765ed201f3c3259039e9b59BODPA-PS.jpg (abgerufen am 17.02.2017)
- 94 Kim YH, Park JS, Norwitz ER, Park JW, Kim SM, Lee SM, Park CW, Kim BJ, Koo JN, Oh IH, Song YS (2013) Genotypic prevalence of human papillomavirus infection during normal pregnancy: A cross-sectional study. *J Obstet Gynaecol Res*:
- 95 Schneider A, Hotz M, Gissmann L (1987) Increased prevalence of human papillomaviruses in the lower genital tract of pregnant women. *Int J Cancer* 40: 198-201
- 96 Hernandez-Giron C, Smith JS, Lorincz A, Lazcano E, Hernandez-Avila M, Salmeron J (2005) High-risk human papillomavirus detection and related risk factors among pregnant and nonpregnant women in Mexico. *Sex Transm Dis* 32: 613-618
- 97 Banura C, Franceschi S, van Doorn LJ, Arslan A, Kleter B, Wabwire-Mangen F, Mbidde EK, Quint W, Weiderpass E (2008) Prevalence, incidence and clearance of human papillomavirus infection among young primiparous pregnant women in Kampala, Uganda. *Int J Cancer* 123: 2180-2187
- 98 Peng TC, Searle CP, 3rd, Shah KV, Repke JT, Johnson TR (1990) Prevalence of human papillomavirus infections in term pregnancy. *Am J Perinatol* 7: 189-192
- 99 Schmeink CE, Melchers WJ, Hendriks JC, Quint WG, Massuger LF, Bekkers RL (2012) Human papillomavirus detection in pregnant women: a prospective matched cohort study. *J Womens Health (Larchmt)* 21: 1295-1301
- 100 Chang-Claude J, Schneider A, Smith E, Blettner M, Wahrendorf J, Turek L (1996) Longitudinal study of the effects of pregnancy and other factors on detection of HPV. *Gynecol Oncol* 60: 355-362
- 101 Tenti P, Zappatore R, Migliora P, Spinillo A, Maccarini U, De Benedittis M, Vesentini N, Marchitelli G, Silini E, Carnevali L (1997) Latent human papillomavirus infection in pregnant women at term: a case-control study. *J Infect Dis* 176: 277-280
- 102 Mayaud P, Weiss HA, Lacey CJ, Gill DK, Mabey DC (2003) Genital human papillomavirus genotypes in northwestern Tanzania. *J Clin Microbiol* 41: 4451-4453
- 103 Dartell M, Rasch V, Kahesa C, Mwaiselage J, Ngoma T, Junge J, Gernow A, Ejlersen SF, Munk C, Iftner T, Kjaer SK (2012) Human papillomavirus prevalence and type distribution in 3603 HIV-positive and HIV-negative women in the general population of Tanzania: the PROTECT study. *Sex Transm Dis* 39: 201-208
- 104 Comar M, Iannaccone MR, Casalicchio G, McKay-Chopin S, Tommasino M, Gheit T (2012) Comparison of hybrid capture II, linear array, and a bead-based multiplex genotyping assay for detection of human papillomavirus in women with negative pap test results and atypical squamous cells of undetermined significance. *J Clin Microbiol* 50: 4041-4046
- 105 Jia H, Wang X, Long Z, Li L (2015) Human papillomavirus infection and cervical dysplasia in female sex workers in Northeast China: an observational study. *BMC Public Health* 15: 695
- 106 Hoang HT, Ishizaki A, Nguyen CH, Tran VT, Matsushita K, Saikawa K, Hosaka N, Pham HV, Bi X, Ta VT, Van Pham T, Ichimura H (2013) Infection with high-risk HPV types among female sex workers in northern Vietnam. *J Med Virol* 85: 288-294

- 107 Levi JE, Fernandes S, Tateno AF, Motta E, Lima LP, Eluf-Neto J, Pannuti CS (2004) Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. *Gynecol Oncol* 92: 225-231
- 108 Vinodhini K, Shanmughapriya S, Das BC, Natarajaseenivasan K (2012) Prevalence and risk factors of HPV infection among women from various provinces of the world. *Arch Gynecol Obstet* 285: 771-777
- 109 Denny L, Adewole I, Anorlu R, Dreyer G, Moodley M, Smith T, Snyman L, Wiredu E, Molijn A, Quint W, Ramakrishnan G, Schmidt J (2014) Human papillomavirus prevalence and type distribution in invasive cervical cancer in sub-Saharan Africa. *Int J Cancer* 134: 1389-1398
- 110 Pinto Dda S, Fuzii HT, Quaresma JA (2011) Prevalence of genital HPV infection in urban and rural women in the Eastern Brazilian Amazon. *Cad Saude Publica* 27: 769-778
- 111 Kliucinskas M, Nadisauskiene RJ, Minkauskiene M (2006) Prevalence and risk factors of HPV infection among high-risk rural and urban Lithuanian women. *Gynecol Obstet Invest* 62: 173-180
- 112 Schluterman NH, Sow SO, Traore CB, Bakarou K, Dembele R, Sacko F, Gravitt PE, Tracy JK (2013) Differences in patterns of high-risk human papillomavirus infection between urban and rural low-resource settings: cross-sectional findings from Mali. *BMC Womens Health* 13: 4
- 113 Singh DK, Anastos K, Hoover DR, Burk RD, Shi Q, Ngendahayo L, Mutimura E, Cajigas A, Bigirimani V, Cai X, Rwamwejo J, Vuolo M, Cohen M, Castle PE (2009) Human papillomavirus infection and cervical cytology in HIV-infected and HIV-uninfected Rwandan women. *J Infect Dis* 199: 1851-1861
- 114 Fontaine J, Hankins C, Money D, Rachlis A, Pourreaux K, Ferenczy A, Canadian Women's HIVSG, Coutlee F (2008) Human papillomavirus type 16 (HPV-16) viral load and persistence of HPV-16 infection in women infected or at risk for HIV. *J Clin Virol* 43: 307-312
- 115 Zhang L, Liao H, Yang B, Geffre CP, Zhang A, Zhou A, Cao H, Wang J, Zhang Z, Zheng W (2015) Variants of human papillomavirus type 16 predispose toward persistent infection. *Int J Clin Exp Pathol* 8: 8453-8459
- 116 Schiffman M, Rodriguez AC, Chen Z, Wacholder S, Herrero R, Hildesheim A, Desalle R, Befano B, Yu K, Safaeian M, Sherman ME, Morales J, Guillen D, Alfaro M, Hutchinson M, Solomon D, Castle PE, Burk RD (2010) A population-based prospective study of carcinogenic human papillomavirus variant lineages, viral persistence, and cervical neoplasia. *Cancer Res* 70: 3159-3169
- 117 Hanisch RA, Cherne SL, Sow PS, Winer RL, Hughes JP, Feng Q, Gottlieb GS, Toure M, Dem A, Kiviat NB, Hawes SE, University of Washington-Dakar HIV, Cervical Cancer Study G (2014) Human papillomavirus type 16 viral load in relation to HIV infection, cervical neoplasia and cancer in Senegal. *Cancer Epidemiol* 38: 369-375
- 118 Bayo S, Bosch FX, de Sanjose S, Munoz N, Combita AL, Coursaget P, Diaz M, Dolo A, van den Brule AJ, Meijer CJ (2002) Risk factors of invasive cervical cancer in Mali. *Int J Epidemiol* 31: 202-209
- 119 Borgdorff H, Verwijs MC, Wit FW, Tsvitshivadze E, Ndayisaba GF, Verhelst R, Schuren FH, van de Wijgert JH (2015) The impact of hormonal contraception and pregnancy on sexually transmitted infections and on cervicovaginal microbiota in african sex workers. *Sex Transm Dis* 42: 143-152
- 120 Thulaseedharan JV, Malila N, Hakama M, Esmey PO, Cheriyan M, Swaminathan R, Muwonge R, Sankaranarayanan R (2012) Socio demographic and reproductive risk

- factors for cervical cancer - a large prospective cohort study from rural India. *Asian Pac J Cancer Prev* 13: 2991-2995
- 121 Albero G, Castellsague X, Giuliano AR, Bosch FX (2012) Male circumcision and genital human papillomavirus: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis* 39: 104-113
- 122 Castro FA, Dominguez A, Puschel K, Van De Wyngard V, Snijders PJ, Franceschi S, Pawlita M, Ferreccio C (2014) Serological prevalence and persistence of high-risk human papillomavirus infection among women in Santiago, Chile. *BMC Infect Dis* 14: 361
- 123 Wang SS, Schiffman M, Shields TS, Herrero R, Hildesheim A, Bratti MC, Sherman ME, Rodriguez AC, Castle PE, Morales J, Alfaro M, Wright T, Chen S, Clayman B, Burk RD, Viscidi RP (2003) Seroprevalence of human papillomavirus-16, -18, -31, and -45 in a population-based cohort of 10000 women in Costa Rica. *Br J Cancer* 89: 1248-1254
- 124 Friese K, Schäfer A, Hof H: *Infektionskrankheiten in Gynäkologie und Geburtshilfe*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2003, S. 72-77; 271-316; 373-399; 518-532
- 125 Verteramo R, Pierangeli A, Mancini E, Calzolari E, Bucci M, Osborn J, Nicosia R, Chiarini F, Antonelli G, Degener AM (2009) Human Papillomaviruses and genital co-infections in gynaecological outpatients. *BMC Infect Dis* 9: 16
- 126 Abdelaziz ZA, Ibrahim ME, Bilal NE, Hamid ME (2014) Vaginal infections among pregnant women at Omdurman Maternity Hospital in Khartoum, Sudan. *J Infect Dev Ctries* 8: 490-497
- 127 Jespers V, Crucitti T, Menten J, Verhelst R, Mwaura M, Mandaliya K, Ndayisaba GF, Delany-Moretlwe S, Verstraelen H, Hardy L, Buve A, van de Wijgert J, Vaginal Biomarkers Study G (2014) Prevalence and correlates of bacterial vaginosis in different sub-populations of women in sub-Saharan Africa: a cross-sectional study. *PLoS One* 9: e109670
- 128 Magana-Contreras M, Contreras-Paredes A, Chavez-Blanco A, Lizano M, De la Cruz-Hernandez Y, De la Cruz-Hernandez E (2015) Prevalence of sexually transmitted pathogens associated with HPV infection in cervical samples in a Mexican population. *J Med Virol* 87: 2098-2105
- 129 Ortashi OM, El Khidir I, Herieka E (2004) Prevalence of HIV, syphilis, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoea, Trichomonas vaginalis and candidiasis among pregnant women attending an antenatal clinic in Khartoum, Sudan. *J Obstet Gynaecol* 24: 513-515
- 130 Suerbaum S, Hahn H, Burchard G, Kaufmann S, Schulz T: *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2012, S. 399-404; 684-688
- 131 Lazenby GB, Taylor PT, Badman BS, McHaki E, Korte JE, Soper DE, Young Pierce J (2014) An association between Trichomonas vaginalis and high-risk human papillomavirus in rural Tanzanian women undergoing cervical cancer screening. *Clin Ther* 36: 38-45
- 132 Clarivet B, Picot E, Marchandin H, Tribout V, Rachedi N, Schwartzentruber E, Ledesert B, Dereure O, Guillot B, Picot MC (2014) Prevalence of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae and Mycoplasma genitalium in asymptomatic patients under 30 years of age screened in a French sexually transmitted infections clinic. *Eur J Dermatol* 24: 611-616

- 133 Shim HS, Noh S, Park AR, Lee YN, Kim JK, Chung HJ, Kang KS, Cho NH (2010) Detection of sexually transmitted infection and human papillomavirus in negative cytology by multiplex-PCR. *BMC Infect Dis* 10: 284
- 134 Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM (2006) The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis* 194: 828-836
- 135 Mengistie Z, Woldeamanuel Y, Asrat D, Adera A (2014) Prevalence of bacterial vaginosis among pregnant women attending antenatal care in Tikur Anbessa University Hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Res Notes* 7: 822
- 136 Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, Bosire C, De Sutter P, Temmerman M, Broeck DV (2011) Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 11: 10
- 137 Deluca GD, Basiletti J, Schelover E, Vasquez ND, Alonso JM, Marin HM, Lucero RH, Picconi MA (2011) *Chlamydia trachomatis* as a probable cofactor in human papillomavirus infection in aboriginal women from northeastern Argentina. *Braz J Infect Dis* 15: 567-572
- 138 Castle PE, Giuliano AR (2003) Chapter 4: Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients--assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Inst Monogr*: 29-34
- 139 Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE, Sternberg M, Sawyer MK, Swan D, Papp JR, Black CM, Unger ER (2005) Association of *Chlamydia trachomatis* with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. *Am J Epidemiol* 162: 668-675
- 140 Liu J, Liu W, Liu Y, Zhou X, Zhang Z, Sun Z (2015) Prevalence of microorganisms co-infections in human papillomaviruses infected women in Northern China. *Arch Gynecol Obstet*:
- 141 Lee LA, Franzel L, Atwell J, Datta SD, Friberg IK, Goldie SJ, Reef SE, Schwalbe N, Simons E, Strebel PM, Sweet S, Suraratdecha C, Tam Y, Vynnycky E, Walker N, Walker DG, Hansen PM (2013) The estimated mortality impact of vaccinations forecast to be administered during 2011-2020 in 73 countries supported by the GAVI Alliance. *Vaccine* 31 Suppl 2: B61-72
- 142 Apter D, Wheeler CM, Paavonen J, Castellsague X, Garland SM, Skinner SR, Naud P, Salmeron J, Chow SN, Kitchener HC, Teixeira JC, Jaisamrarn U, Limson G, Szarewski A, Romanowski B, Aoki FY, Schwarz TF, Poppe WA, Bosch FX, Mindel A, de Sutter P, Hardt K, Zahaf T, Descamps D, Struyf F, Lehtinen M, Dubin G, Group HPS (2015) Efficacy of human papillomavirus 16 and 18 (HPV-16/18) AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer in young women: final event-driven analysis of the randomized, double-blind PATRICIA trial. *Clin Vaccine Immunol* 22: 361-373
- 143 Nakalembe M, Mirembe FM, Banura C (2015) Vaccines against human papillomavirus in low and middle income countries: a review of safety, immunogenicity and efficacy. *Infect Agent Cancer* 10: 17
- 144 Kreimer AR, Struyf F, Del Rosario-Raymundo MR, Hildesheim A, Skinner SR, Wacholder S, Garland SM, Herrero R, David MP, Wheeler CM, Costa Rica Vaccine T, groups Ps (2015) Efficacy of fewer than three doses of an HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine: combined analysis of data from the Costa Rica Vaccine and PATRICIA trials. *Lancet Oncol* 16: 775-786
- 145 Fesenfeld M, Hutubessy R, Jit M (2013) Cost-effectiveness of human papillomavirus vaccination in low and middle income countries: a systematic review. *Vaccine* 31: 3786-3804

- 146 Kiatpongsan S, Kim JJ (2014) Costs and cost-effectiveness of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccination in two East African countries. *PLoS One* 9: e106836
- 147 Baussano I, Lazzarato F, Ronco G, Dillner J, Franceschi S (2013) Benefits of catch-up in vaccination against human papillomavirus in medium- and low-income countries. *Int J Cancer* 133: 1876-1881
- 148 Cunningham MS, Davison C, Aronson KJ (2014) HPV vaccine acceptability in Africa: a systematic review. *Prev Med* 69: 274-279
- 149 Schiffman M, Khan MJ, Solomon D, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, Wheeler CM, Burk RD, Group PEG, Group A (2005) A study of the impact of adding HPV types to cervical cancer screening and triage tests. *J Natl Cancer Inst* 97: 147-150
- 150 Asres M, Fantahun M (2013) Health facility preparedness for routine immunization services in Gambella region, Ethiopia. *Ethiop Med J* 51 Suppl 1: 67-69
- 151 Liu Z, Rashid T, Nyitray AG (2015) Penises not required: a systematic review of the potential for human papillomavirus horizontal transmission that is non-sexual or does not include penile penetration. *Sex Health*:
- 152 Hammouda D, Munoz N, Herrero R, Arslan A, Bouhadeb A, Oublil M, Djedeat B, Fontaniere B, Snijders P, Meijer C, Franceschi S (2005) Cervical carcinoma in Algiers, Algeria: human papillomavirus and lifestyle risk factors. *Int J Cancer* 113: 483-489

8 Thesen

1. Schwangere Frauen in Äthiopien zeigen eine hohe HPV-Prävalenz von 33,2% in der vaginalen Lavage
2. Frauen unter städtischem Einfluss zeigen deutlich höhere HPV-Prävalenzen als ländlich lebende Frauen (36,8 vs. 17,6%; OR 2,36 (95%-KI: 1,47-3,79))
3. HPV Hochrisiko-Typen (22,1%) und Hochrisiko-Typen mit hoher Viruslast (13,8%) sind häufig bei schwangeren äthiopischen Frauen
4. Die häufigsten HPV-Typen in Äthiopien sind HPV 16, 52, 53, 51, 39 und 81
5. Junges Alter der Frauen bei erstem Geschlechtsverkehr korrelieren signifikant mit einer HPV-Positivität (OR 1,86 (95%-KI: 1,02-3,41))
6. Die klassischen Geschlechtskrankheiten wie Chlamydien, Herpes simplex Typ 2, Gonokokken, Trichomonaden, Mykoplasmen und Treponema pallidum sind nicht sehr häufig (< 6,2%)
7. Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen Chlamydia trachomatis bzw. Herpes simplex Typ 2 Viren und einer HPV-Infektion (OR für HSV 2: 10,53 (95%-KI: 2,29-48,41), alle Chlamydienfälle waren auch HPV positiv, daher OR nicht berechenbar)
8. Es zeigt sich keine Korrelation zwischen HPV-Infektionen und einer Bakterieller Vaginose (OR 1,26 (95%-KI: 0,83-1,92))
9. In der Serologie zeigen 16,1% der Frauen Antikörper gegen HPV Hochrisiko-Typen
10. 1% der Frauen weisen Antikörper gegen HPV 16 E6- oder E7-Proteine auf, die auf ein hohes kanzerogenes Potential der Infektion hinweisen

9 Anhang

1. Einverständniserklärung auf Englisch
2. Fragebogen auf Englisch
3. Einverständniserklärung und Fragebogen auf Amharisch
4. Einverständniserklärung und Fragebogen auf Afaan Oromo
5. Einverständniserklärung und Fragebogen auf Tigrinya
6. Tabellen vaginale HPV-Typen
7. Tabelle HPV-Serologie-Typen

Diese Dateien sind auf https://www.dropbox.com/sh/eyllz6vhpjs2koi/AACjRPc8LP0M-v8P_hVDt8t_a?dl=0 einzusehen.

Lebenslauf

Name Isabel Helen Runge
Geboren 7. Oktober 1987 in Freiburg im Breisgau
Adresse Vordere Steige 2
79104 Freiburg
Telefon 0176 81003345
E-Mail bel.runge@gmail.com

Schulbildung

2007 Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung

Okt. 2008 – Juni 2015 Studium der Humanmedizin an der Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

Juni 2015 Ärztliche Prüfung
Apr. 2014 Zweites Staatsexamen
Sept. 2010 Physikum

Praktisches Jahr

Dez. – Apr. 2015 Gynäkologie und Geburtshilfe am Klinikum St. Hedwig,
Regensburg
Nov. – Dez. 2014 Allgemeinchirurgie am Northern Health Hospital, Melbourne,
Australien
Sept. – Nov. 2014 Orthopädie/Unfallchirurgie am Tan Tock Seng Hospital, Singapur
Mai – Sept. 2014 Innere Medizin am Diakonieklinikum Schwäbisch Hall

Berufliche Laufbahn

Seit Juni 2016 Assistenzärztin in der Gynäkologie und Geburtshilfe am St.
Barbara Krankenhaus, Schwandorf

Mitgliedschaften

Mitglied der FIDE AG (Frauengesundheit in der Entwicklungszusammenarbeit)

Kurse, Vorträge und Poster

Febr. 2016 Scientific Writing Workshop Halle (Saale)
Nov. 2015 Poster bei der AORTIC-Konferenz in Marrakech
Okt. 2015 Vortrag bei der FIDE AG Jahrestagung
Nov. 2013 Vortrag bei der FIDE AG Jahrestagung

Regensburg den 04.12.2017

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Die Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis wurden beachtet (Amtsblatt der MLU Nr.5, 02.07.09).

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Regensburg, den 04.12.2017

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. C. Thomssen, für die Möglichkeit dieser Arbeit an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und seine Unterstützung während des gesamten Projektes bedanken.

Mein größter Dank gilt Frau Dr. med. Eva Kantelhardt für die hervorragende Betreuung der Doktorarbeit, ihren enormen zeitlichen Aufwand und dafür, dass sie Tag und Nacht erreichbar war.

Für die gelungene Zusammenarbeit und tatkräftige Unterstützung bei der Probensammlung möchte ich Ann-Katrin Pannen und Johanna Komp danken.

Weiterhin möchte ich mich bei den äthiopischen Kollegen Dr. Adamu, Dr. Tariku, Dr. Mathewos, Timotheos, Dr. Fithanegust, Dr. Samson und Dr. Yirgu bedanken, welche die Umsetzung der Studie vor Ort möglich gemacht haben. Für die Übersetzung, sowohl sprachlich als auch kulturell, möchte ich den Herren Israel Mitiku, Thomas Addissie, Serebe Abay und den vielen Krankenschwestern der Schwangerenvorsorge danken.

Ein weiteres Dankeschön gilt der Arbeitsgruppe von Dr. Pawlita am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg. Die Arbeitsgruppe zeigte während der gesamten Arbeit viel Einsatz und Hilfsbereitschaft. Mein besonderer Dank gilt Dr. Pawlita und Dana Holzinger für den enormen zeitlichen Aufwand, die wertvollen Diskussionen und ihre Geduld.

Besonderer Dank gilt auch den vielen äthiopischen Frauen, die bereitwillig an der Studie teilgenommen haben.

Für die finanzielle Unterstützung der Studie bedanke ich mich bei der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und der FIDE AG.

Zuletzt möchte ich mich auch bei meiner Familie bedanken, die immer hinter mir stand und mich bedingungslos finanziell und emotional unterstützt hat.